

**POTENSI EKSTRAK LEMPUYANG GAJAH
[*Zingiber zerumbet* (L.) Smith] SEBAGAI *FEED ADDITIVE*:
UPAYA PENGENDALIAN SALMONELLOSIS UNTUK PERBAIKAN
PERFORMA DAN KESEHATAN AYAM BROILER**

DISERTASI

**Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Memperoleh Derajat Gelar S-3
Doktor Ilmu Pertanian**



Disusun oleh :

**IMBANG DWI RAHAYU
NIM : 201610580111003**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
2020**

**POTENSI EKSTRAK LEMPUYANG GAJAH
[*Zingiber zerumbet* (L.) Smith] SEBAGAI *FEED ADDITIVE*:
UPAYA PENGENDALIAN SALMONELOSIS UNTUK PERBAIKAN
PERFORMA DAN KESEHATAN AYAM BROILER**

DISERTASI

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Memperoleh Derajat Gelar S-3
Doktor Ilmu Pertanian



Disusun oleh :

**IMBANG DWI RAHAYU
NIM 201610580111003**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

POTENSI EKSTRAK LEMPUYANG GAJAH [*Zingiber zerumbet* (L.) Smith] SEBAGAI *FEED ADDITIVE*: UPAYA PENGENDALIAN SALMONELOSIS UNTUK PERBAIKAN PERFORMA DAN KESEHATAN AYAM BROILER

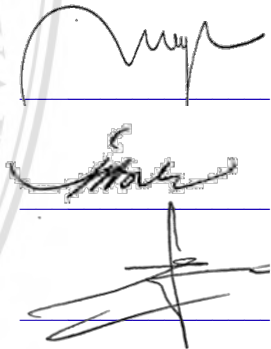
IMBANG DWI RAHAYU

201610580111003

Promotor : **Prof. Dr. Wahyu Widodo**

Ko-Promotor I : **Prof. Dr. Indah Prihartini**

Ko-Promotor II : **Dr. Aris Winaya**

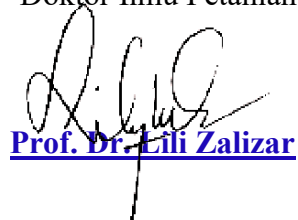


Direktur
Program Pascasarjana



Prof. Akhsanul In'am, Ph.D.

Ketua Program Studi
Doktor Ilmu Petanian



Prof. Dr. Lili Zalizar

DAFTAR PENGUJI

Disertasi ini telah dipertahankan di depan tim penguji dalam forum Ujian Terbuka pada hari/tanggal, Sabtu/ 8 Agustus 2020

DEWAN PENGUJI :

1. Prof. Dr. Wahyu Widodo (Promotor)
2. Prof. Dr. Indah Prihartini (Ko. Promotor I)
3. Dr. Aris Winaya (Ko Promotor II)
4. Prof. Dr. Lili Zalizar (Penguji)
5. Prof. Akhsanul In'am, Ph.D (Penguji)
6. Dr. Ahmad Wahyudi (Penguji)
7. Dr. Listiari Hendraningsih (Penguji)
8. Dr. Abdulkadir Rahardjanto (Penguji)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : **Imbang Dwi Rahayu**
NIM : **201610580111003**
Program Studi : **Doktor Ilmu Pertanian**

Dengan ini menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa :

1. DISERTASI dengan judul, **POTENSI EKSTRAK LEMPUYANG GAJAH [*Zingiber zerumbet* (L.) Smith] SEBAGAI FEED ADDITIVE: UPAYA PENGENDALIAN SALMONELLOSIS UNTUK PERBAIKAN PERFORMA DAN KESEHATAN AYAM BROILER** Adalah karya saya dan dalam naskah Disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dalam daftar pustaka.
2. Apabila ternyata dalam naskah Disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur **PLAGIASI**, saya bersedia Disertasi ini **DIGUGURKAN** dan **GELAR AKADEMIK YANG TELAH SAYA PEROLEH DIBATALKAN**, serta diproses sesuai dengan ketentuan hukum yang berlaku.
3. Disertasi ini dapat dijadikan sumber pustaka yang merupakan **HAK BEBAS ROYALTY NON EKSKLUSIF**.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 8 Agustus 2020

Yang menyatakan,



Imbang Dwi Rahayu

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi yang berjudul: **Potensi Ekstrak Lempuyang Gajah [*Zingiber zerumbet* (L.) Smith] Sebagai *Feed Additive*: Upaya Pengendalian Salmonelosis untuk Perbaikan Performa dan Kesehatan Ayam Broiler.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

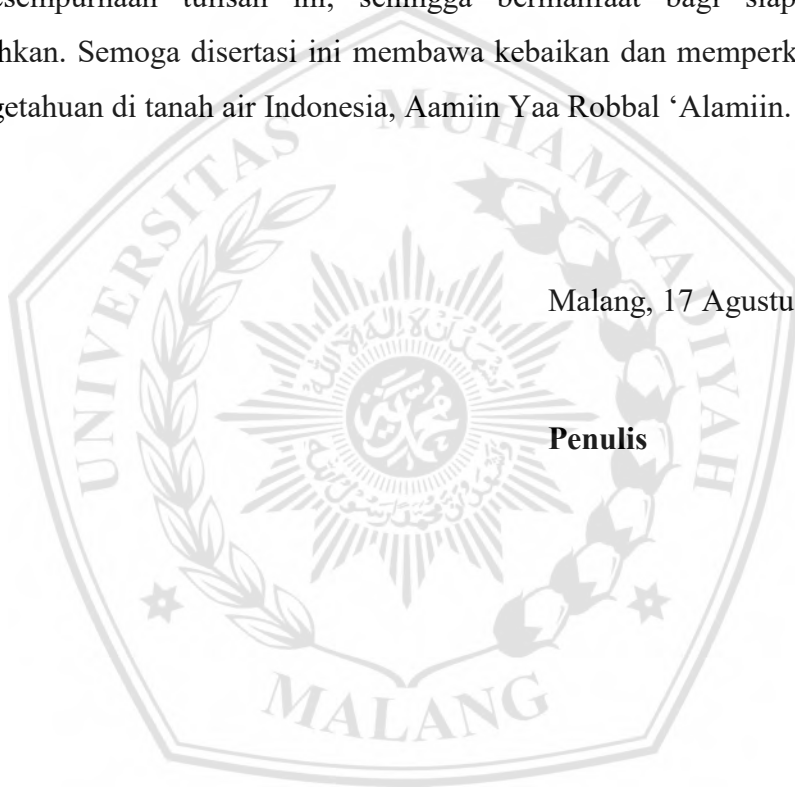
1. Bapak Prof. Dr. Ir. Wahyu Widodo, MS., selaku Promotor, Prof. Dr. Ir. Indah Prihartini, MP dan Dr. Ir. Aris Winaya, MM. MSi., selaku Ko-Promotor atas kesabarannya membimbing, mendampingi, memberi dorongan, semangat dan saran kepada penulis.
2. Prof. Dr. Drh. Lili Zalizar, MS., Dr. Ir. Ahmad Wahyudi, MKes., Dr. Ir. Listiari Hendraningsih, Dr. Abdulkadir Rahardjanto, dan Prof. Akhsanul In'am, Ph.D., selaku penguji yang telah memberi pengarahan, dorongan, semangat dan saran, baik selama pelaksanaan penelitian maupun penyempurnaan disertasi ini.
3. Direktur Pasca Sarjana Universitas Muhammadiyah Malang, Prof. Akhsanul In'am, Ph.D., dan Ketua Program Studi Ilmu Pertanian, Prof. Dr. Drh. Lili Zalizar, MS., yang telah memberikan fasilitas akademik, pengarahan, dorongan, semangat untuk penyelesaian penulisan dan ujian kelayakan disertasi ini.
4. Dekan Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang, Dr. Ir. David Hermawan, MP., IPM., dan Ketua Jurusan Peternakan, Dr. Ir. Asmah Hidayati, MS., yang telah memberikan fasilitas laboratorium ruang maupun lapang dalam penelitian disertasi ini.
5. Rektor Universitas Muhammadiyah Malang yang telah memberikan kesempatan, izin, fasilitas, dan biaya selama studi S-3.
6. Kolega, sahabat, kerabat, penulis yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas segala bantuan dan dukungannya yang tidak pernah berhenti.

7. Adik-adik mahasiswa S1 jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang yang telah banyak membantu dalam melancarkan penelitian serta penulisan disertasi ini.
8. Terima kasih yang sangat mendalam penulis haturkan kepada suami dan anak-anakku tercinta atas limpahan kasih sayang, kesabaran dan senantiasa memberi dukungan semangat untuk menyelesaikan disertasi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan tulisan ini, sehingga bermanfaat bagi siapa saja yang membutuhkan. Semoga disertasi ini membawa kebaikan dan memperkaya khasanah ilmu pengetahuan di tanah air Indonesia, Aamiin Yaa Robbal ‘Alamiin.

Malang, 17 Agustus 2020

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
DAFTAR PENGUJI	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
SURAT PERNYATAAN	xii
LETTER OF STATEMENT.....	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xvi
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Orisinilitas Penelitian.....	5
D. Tujuan Penelitian	8
1. Tujuan Umum	8
2. Tujuan Khusus	8
E. Manfaat Penelitian	8
F. Batasan Variabel	9
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Fisiologi Sistem Pencernaan Unggas.....	10
1. Saluran Pencernaan	10
2. Kelenjar Pencernaan.....	13
B. Salmonellosis Pada Unggas	14
C. Fitobiotik dalam Lempuyang Gajah (<i>Z. zerumbet</i> L. Smith)	17
1. Alkaloid.....	19
2. Flavonoid	19
3. Fenol.....	20
4. Terpenoid	21
D. Herbal sebagai <i>Feed Additive</i> pada Ayam Broiler	22
1. Efek <i>Feed Additive</i> Herbal Terhadap Kesehatan Organ Viseral	23
2. Efek <i>Feed Additive</i> Herbal Terhadap Kesehatan Intestinal	24
3. Efek <i>Feed Additive</i> Herbal Terhadap Profil Darah	26

4. Efek <i>Feed Additive</i> Herbal Terhadap Performa	27
E. Kerangka Teori Penelitian	29
F. Kerangka Konsep Penelitian.....	32
G. Hipotesis Penelitian	35
 BAB III METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian Tahap I	36
B. Desain Penelitian Tahap II.....	38
C. Desain Penelitian Tahap III	45
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Determinasi Tanaman Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i> L. Smith)	54
B. Karakterisasi Simplisia Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis	54
C. Hasil Pengujian Parameter Spesifik.....	54
D. Karakteristik Ekstrak <i>Z. zerumbet</i> L Smith	55
E. Pengujian Kimia dan Mikrobiologis Ekstrak <i>Z. zerumbet</i>	64
F. Pengujian Aktivitas Antibakteri secara <i>In vitro</i>	65
G. Potensi Ekstrak <i>Z. zerumbet</i> sebagai <i>Feed Additive</i> terhadap Kesehatan Intestinum Ayam Broiler.....	68
H. Potensi Ekstrak <i>Z. zerumbet</i> sebagai <i>Feed Additive</i> terhadap Biokimiawi Serum Ayam Broiler	73
I. Potensi Ekstrak <i>Z. zerumbet</i> sebagai <i>Feed Additive</i> terhadap Performa Ayam Broiler	84
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	90
B. Saran:	90
 DAFTAR PUSTAKA.....	92

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
Tabel 1.	Hasil-hasil Penelitian Ekstrak <i>Zingiber zerumbet</i> Secara In vitro dan In vivo	6
Tabel 2.	Formulasi Ransum.....	47
Tabel 3.	Pengukuran Aktivitas Enzim Protease	50
Tabel 4.	Data Hasil Pengujian Identitas dan Organoleptik Ekstrak	55
Tabel 5.	Hasil Penapisan fitobiotik Ekstrak etanol <i>Z.zerumbet</i>	56
Tabel 6.	Jenis-jenis Fitobiotik yang Terkandung dalam Ekstrak <i>Z. zerumbet</i> dan Persentase Kelimpahan dengan Metode GCMS	62
Tabel 7.	Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik Ekstrak <i>Z. zerumbet</i>	64
Tabel 8.	Hasil Uji DMRT Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Jumlah sel (\times cfu 10^8 /ml) dan Zona Hambat (mm) <i>Salmonella spp</i>	65
Tabel 9.	Hasil Uji DMRT Pengaruh Konsentrasi Ekstrak <i>Z. Zerumbet</i> Terhadap Jumlah sel (\times cfu 10^8 /ml) dan Zona Hambat (mm) <i>Salmonella spp</i>	65
Tabel 10.	Evaluasi Jumlah <i>S. enteritidis</i> pada feses Ayam umur 28 hari (CFU/ml)	68
Tabel 11.	Pengaruh Ekstrak etanol <i>Z. zerumbet</i> terhadap Parameter-parameter Morfologi Usus Halus	70
Tabel 12.	Aktivitas Enzim Pencernaan Usus Halus Broiler.....	72
Tabel 13.	Hasil Pemeriksaan Kadar Protein, albumin dan globulin Serum Darah (g/dl).....	74
Tabel 14.	Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida, Kolesterol, LDL dan HDL (mg/dl).....	76
Tabel 15.	Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT, SGOT dan MDA	80
Tabel 16.	Jumlah Leukosit dan persentase masing-masing jenis sel.....	81
Tabel 17.	Nilai Kecernaan Zat Gizi	85
Tabel 18.	Persentase Berat Organ Visceral	86
Tabel 19.	Tampilan Produksi Ayam Broiler.....	88

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
Gambar 1.	Organ internal sistem pencernaan unggas	10
Gambar 2.	Klas-klas Alkaloid (Cseke <i>et al.</i> , 2006).....	19
Gambar 3.	Struktur kimia monoterpena (Harborne, 2006).....	21
Gambar 4.	Struktur kimia sesquiterpenoid (Harborne, 2006)	22
Gambar 5.	Skema Kerangka Teori Penelitian	32
Gambar 6.	Kerangka Konsep Penelitian.....	34
Gambar 7.	Proses pembuatan ekstrak <i>Z. zerumbet</i> bentuk serbuk.	46
Gambar 8.	Ekstrak Kental <i>Z. zerumbet</i> : A. etanol 95%, B. Etanol 70%, C. Etanol 45%.	56
Gambar 9.	Mekanisme Aksi fitobiotik terhadap sel bakteri (Tripathi <i>et al.</i> , 2013).....	60
Gambar 10.	Chromatogram ekstrak etanol 45% dari rimpang <i>Z. zerumbet</i>	63
Gambar 11.	Chromatogram ekstrak etanol 70% dari rimpang <i>Z. zerumbet</i>	63
Gambar 12.	Chromatogram ekstrak etanol 95% dari rimpang <i>Z. zerumbet</i>	64
Gambar 13.	Bagan singkat proses metabolisme dan jalur transportasi yang mengontrol kolesterol ((Djaelani dan Tana, 2015).).....	64
Gambar 14.	Bagan mekanisme perubahan asam arakidonat (Tjay dan Rahardja, 2015).....	78

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
Lampiran 1.	Hasil Uji Determinasi Tanaman Lempuyang Gajah [<i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Smith]	107
Lampiran 2.	Surat Keterangan Skrining Fitokimia.....	108
Lampiran 3.	Surat Keterangan Proses Pembuatan Serbuk Lempuyang	112
Lampiran 4.	Surat Keterangan Ekstrak <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Smith (Etanol 45%)	113
Lampiran 5.	Surat Keterangan Ekstrak <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Smith (Etanol 70%)	114
Lampiran 6.	Surat Keterangan Ekstrak <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Smith (Etanol 95%)	115
Lampiran 7.	Surat Keterangan Hasil Histopatologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM.....	116
Lampiran 8.	Surat Keterangan Hasil Uji Laboratorium Kimia UMM	117
Lampiran 10.1.	Analisis Varians Jumlah <i>Salmonella enteritidis</i>	119
Lampiran 10.2.	Analisis Varians Jumlah <i>Salmonella typhimurium</i>	121
Lampiran 10.3.	Analisis Varians Zona Hambat <i>Salmonella enteritidis</i>	123
Lampiran 10.4.	Analisis Varians Zona Hambat <i>Salmonella typhimurium</i>	125
Lampiran 11.1.	Analisis Varians dan Uji Duncan Berat Organ Visceral	129
Lampiran 11.2.	Analisis Varians dan Uji Duncan Profil Leukosit	132
Lampiran 11.3.	Analisis Varians dan Uji Duncan Profil Protein	135
Lampiran 11.4.	Analisis Varians dan Uji Duncan Profil Lemak	137
Lampiran 11.5.	Analisis Varians dan Uji Duncan Profil SGPT dan SGOT	139
Lampiran 12.	Hasil Uji Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS)	141

ABSTRAK

Judul : Potensi Ekstrak Lempuyang Gajah [*Zingiber Zerumbet* (L.) Smith] Sebagai *Feed Additive*: Upaya Pengendalian Salmonelosis untuk Perbaikan Performa dan Kesehatan Ayam Broiler

Nama : Imbang Dwi Rahayu

Kata Kunci : Broiler, Salmonelosis, ekstrak *Z. zerumbet*, *Antibiotic Growth Promoters*, *S. enteritidis*.

Promotor : Prof. Dr. Ir. Wahyu Widodo, MS.
(wahyuwidodohandayani@gmail.com/NIDN. 0018036401)
Prof. Dr. Ir. Indah Prihartini
(indahprihartini@gmail.com/NIDN. 0029076501)
Dr. Ir. Aris Winaya, MM. MSi
(winaya1964@gmail.com/0014056401)

Tujuan khusus penelitian adalah menguji dan mengevaluasi potensi ekstrak rhizome lempuyang Gajah [*Zingiber zerumbet* (L.) Smith] sebagai *feed additive* untuk pengendalian Salmonelosis pada broiler.

Dilakukan percobaan Tahap I menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial (3x4), dengan analisis varians, diuji lanjut dengan Duncans. Tahap II, menguji karakterisasi fitobiotik dalam ekstrak *Z. zerumbet*, data dianalisis secara deskriptif. Tahap III, percobaan *in vivo*, menggunakan RAL, terdiri dari 5 perlakuan yaitu T0: (pakan standar/ayam sehat/kontrol negatif), T1 (pakan standar/ayam terinfeksi *S. enteritidis*/kontrol positif), T2 (pakan + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33% /ayam diinfeksi *S. enteritidis*), T3 (pakan + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67% /ayam diinfeksi *S. enteritidis*), T4 (pakan + ekstrak *Z. zerumbet* 1% /ayam diinfeksi *S. enteritidis*). Data dianalisis dengan varians, diuji lanjut dengan Duncan's atau deskriptif.

Tahap I dan Tahap II, penggunaan etanol 95% sebagai pelarut dan konsentrasi ekstrak 10% memberikan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Salmonella spp*, sensitifitas *S. enteritidis* terhadap ekstrak lebih tinggi daripada *S. typhimurium*. Ekstrak memiliki senyawa terlengkap, yaitu alkaloid, terpenoid, tannin, flavonoid, dan 13 jenis minyak atsiri.

Tahap III, penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada broiler penderita salmonellosis, pada level 0,67% sampai 1% memberikan efikasi tertinggi dalam menghambat *S. enteritidis*, pada level 0,33% sampai 1% mampu memperbaiki morfologi usus halus, peningkatan aktivitas enzim pencernaan. Kadar trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL, AST, dan MDA tetap normal, peningkatan ALT, namun masih tergolong rendah. Penambahan ekstrak level 0,67% merangsang fagositosis terhadap *S. enteritidis*, berperan sebagai immunomodulator, produksi imun tertinggi pada bursa fabricius, tidak mempengaruhi pencernaan gizi, dan tampilan produksi broiler penderita Salmonelosis.

Kesimpulan sebagai berikut : (1) Konsentrasi etanol 95% sebagai pelarut dan konsentrasi ekstrak *Z. zerumbet* 10% memberikan aktivitas antibakteri yang tertinggi terhadap pertumbuhan *Salmonella spp* dan sensitifitas *S. enteritidis* lebih tinggi daripada *S. typhimurium*. (2) Karakterisasi ekstrak *Z. zerumbet* memenuhi persyaratan BPOM RI, mengandung alkaloid, tannin, terpenoid, flavonoid,

monoterpenoid dan seskuiterpenoid, terutama zerumbon dengan kelimpahan tertinggi. (3) Ekstrak *Z. zerumbet* pada level 0,67% memiliki potensi terbaik sebagai *feed additive Phytobiotic Growth Promoters* (PGP) pengganti AGP dalam pengendalian Salmonellosis pada ayam broiler untuk perbaikan performa dan kesehatan ayam broiler.



ABSTRACT

Title : Potential of Lempuyang Gajah [*Zingiber Zerumbet* (L.) Smith] Extract as a Feed Additive: Salmonellosis Control Efforts To Improve the Performance and Health of Broilers

Name : Imbang Dwi Rahayu

Keyword : Broiler, Salmonellosis, *Z. zerumbet* extracts, Antibiotic Growth Promoters, *S. enteritidis*.

Promotor : Prof. Dr. Ir. Wahyu Widodo, MS.
(wahyuwidodohandayani@gmail.com/NIDN. 0018036401)
Prof. Dr. Ir. Indah Prihartini
(indahprihartini@gmail.com/NIDN. 0029076501)
Dr. Ir. Aris Winaya, MM. MSi
(winaya1964@gmail.com/0014056401)

The specific objective of the study was to test and evaluate the potential of lempuyang Gajah extract (*Zingiber zerumbet* L. Smith) as a feed additive for controlling Salmonellosis in broilers.

The Phase I experiment was conducted using a factorial completely randomized design (CRD) (3x4), with analysis of variance, further tested with Duncans. Phase II, testing the phytobiotic characterization in the *Z. zerumbet* extract, the data were analyzed descriptively. Stage III, an in vivo experiment, using RAL, consisted of 5 treatments, namely T0: (standard feed / negative control), T1 (standard feed + infected with *S. enteritidis* / positive control), T2 (standard feed + 0.33% of *Z. zerumbet* extract + infected with *S. enteritidis*), T3 (standard feed + 0.67% of *Z. zerumbet* extract + infected with *S. enteritidis*), T4 (standard feed + 1% of *Z. zerumbet* extract + infected with *S. enteritidis*). Data were analyzed by variance, further tested with Duncan's or descriptive.

Stage I and Phase II, the use of 95% ethanol as a solvent and 10% extract concentration gave the highest antibacterial activity against *Salmonella spp*, *S. enteritidis* sensitivity to extract was higher than *S. typhimurium*. The extract has the most complete compounds, namely alkaloids, terpenoids, tannins, flavonoids, and 13 types of essential oils.

Stage III, the addition of *Z. zerumbet* extract to broilers with Salmonellosis, at a level of 0.67% to 1% provides the highest efficacy in inhibiting *S. enteritidis*, at a level of 0.33% to 1% it can improve small intestine morphology, increase digestive enzyme activity. Levels of triglycerides, cholesterol, LDL, HDL, AST and MDA remained normal, the ALT increased, but was still low. The addition of extract level of 0.67% stimulates phagocytosis against *S. enteritidis*, acts as an immunomodulator, the highest immune production in the Fabricius bursa, does not affect the digestibility of nutrients, and the appearance of broiler production in Salmonellosis sufferers.

The conclusions were as follows: (1) The 95% ethanol concentration and 10% of *Z. zerumbet* extract provided the highest antibacterial activity against *Salmonella spp* and *S. enteritidis* sensitivity was higher than *S. typhimurium*. (2) The characterization of extract meets the requirements of BPOM RI, containing alkaloids, tannins, terpenoids, flavonoids, monoterpenoids and sesquiterpenoids, especially zerumbon with the highest abundance. (3) *Zingiber zerumbet* extract at the level of

0.67% has the best potential as a feed additive for Phytobiotic Growth Promoters (PGP) to replace AGP in controlling Salmonellosis to improve the performance and health of broilers.



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Komoditas unggas khususnya ayam broiler memiliki prospek pasar yang sangat mengagumkan karena didukung oleh karakteristik produk berupa daging yang disukai oleh masyarakat Indonesia, harga relatif terjangkau dan mudah didapatkan, karena merupakan produk pangan yang tersedia secara kontinyu di pasar. Permintaan daging broiler, baik secara kuantitas maupun kualitas cenderung meningkat seiring dengan pertambahan jumlah penduduk, peningkatan pendapatan masyarakat, perbaikan tingkat pendidikan dan kesadaran masyarakat terhadap pentingnya gizi bagi kesehatan.

Rata-rata tingkat konsumsi daging ayam ras pada tahun 2015 sebesar 4,797Kg/Kapita/Tahun, angka tersebut menunjukkan telah terjadi peningkatan tingkat konsumsi dibandingkan 5 tahun sebelumnya, yaitu sebesar 4,03 Kg/Kapita/Tahun (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2016). Guna mengejar target produksi diperlukan ayam yang bisa tumbuh cepat, efisien dan efektif dengan menambahkan *Antibiotic Growth Promoters* (AGP) yang justru berdampak negatif bagi kesehatan ayam maupun manusia sebagai konsumen.

Permasalahan lain yang dihadapi dalam produksi broiler adalah problema penyakit, terutama penyakit bakterial, yaitu *Salmonellosis* yang memiliki potensi tinggi bisa menyerang peternakan broiler. Beberapa serovar *Salmonella* yang dapat menimbulkan penyakit pada unggas adalah *Salmonella gallinarum* (*S. gallinarum*) dan *Salmonella pullorum* (*S. pullorum*), namun *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) dan *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) bisa menginfeksi unggas, ternak, maupun manusia yang berakibat demam enterik.

Salmonellosis biasa menyerang unggas berumur kurang dari 10 hari dengan tingkat kematian mencapai 80%, *Salmonellosis* yang disebabkan *S. enteritidis* cenderung mengalami peningkatan prevalensi dalam dua dekade terakhir, termasuk di Indonesia (Ariyanti dan Supar, 2008). Vaksinasi terhadap *Salmonella* pertama kali menggunakan *Salmonella* serovar Gallinarum spesifik unggas dan berhasil menurunkan kematian akibat serovar tersebut. Mulai akhir tahun 1980, di Indonesia, Eropa dan Inggris mengarah pada pengembangan vaksin *Salmonella enteritidis*

diikuti pengembangan vaksin gabungan yang mengandung serovar *Enteritidis* dan *Typhimurium* (Pavic, 2012).

Kerugian ekonomis yang diakibatkan Salmonellosis pada ayam broiler, antara lain berupa gangguan pertumbuhan, peningkatan jumlah ayam yang diafkir dan peningkatan kepekaan ayam terhadap penyakit lain. Salmonellosis yang disebabkan oleh serovar *S. pullorum* terbukti menyebabkan infeksi yang bersifat enterik dan atau sistemik (Li *et al.*, 2013). Penyakit Salmonellosis juga menduduki arti penting bagi kesehatan masyarakat, produk ternak yang terkontaminasi *S. typhimurium* dan *S. enteritidis* segera dimusnahkan karena menyebabkan *foodborne disease* yang berbahaya bagi kesehatan manusia dan berakibat peternakan kehilangan peluang bisnis (Basri *et al.*, 2016; Muna *et al.*, 2016).

Guna mencegah penyakit bakterial, perusahaan pakan ternak sering menambahkan antibiotik sintetis sebagai *feed additive* yang juga bertujuan untuk memacu pertumbuhan, sehingga dikenal dengan istilah AGP. Beberapa AGP yang sering ditambahkan pada pakan antara lain bacitracin, kolistin, spiramisin, tiamulin, virginiamisin, aviamisin, flavomisin dan tetrasiklin.

Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 14 / PERMENTAN / PK.350 / 5 / 2017 secara resmi telah melarang penggunaan AGP untuk imbuhan pakan ternak yang dimana produknya dikonsumsi manusia. Peraturan tersebut dikeluarkan sejalan dengan beberapa pengaruh negatif AGP sebagai *feed additive* yang berupa resistensi bakteri, residu antibiotik dalam produk peternakan dan *foodborne disease* mengancam kesehatan manusia sebagai konsumen.

Dampak negatif penggunaan AGP adalah hambatan pertumbuhan dan kolonisasi bakteri usus yang menguntungkan, termasuk *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Boeteroides*, dan *Enterococci* (Panagiota *et al.*, 2015), namun meningkatkan resistensi *Salmonella spp*, termasuk *S. enteritidis* dan *S. typhimurium*. Kedua jenis *Salmonella spp* tersebut berhasil diisolasi dari daging ayam broiler dan terbukti telah resisten terhadap beberapa antibiotik, antara lain: eritromisin, penisilin dan vancomycin, dengan tingkat resistensi 100 persen (Thung *et al.*, 2016). Kasus resistensi *Salmonella spp* berdampak pada semakin sulitnya pengendalian penyakit Salmonellosis pada unggas, sehingga bakteri sering mencemari kandang, air minum dan pakan.

Dampak penggunaan AGP lebih lanjut adalah peningkatan residu antibiotik pada daging maupun organ-organ *visceral* yang bisa mengganggu keamanan pangan asal daging unggas. Residu *sulfadiazine* dan *oxytetracycline* telah ditemukan pada daging broiler (Khatun *et al.*, 2015), residu *tetracycline*, *ampicilin*, *streptomycine*, dan *aminoglycoside* berhasil ditemukan dalam ginjal dan hati ayam (Sajid *et al.*, 2016). Residu antibiotik dapat menyebabkan hilangnya mikrobiota gastrointestinal komensal dan berpotensi terhadap pertumbuhan berlebih dari patogen (McDonald *et al.*, 2016; Wischmeyer *et al.*, 2016)

Diperlukan upaya pencegahan penyakit salmonellosis dengan penambahan ekstrak herbal yang mengandung fitobiotik berpotensi antibakteri sebagai *feed additive* pengganti AGP dalam pakan ayam broiler. Fitobiotik ini bersifat selektif, hanya menghambat bakteri patogen di intestinum, sehingga tercipta keseimbangan mikroflora dalam intestinum yang menjamin perbaikan kesehatan dan performa ayam broiler, salah satu alternatif adalah ekstrak rhizoma lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*/ *Z. zerumbet* L. Smith).

Jenis pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi menentukan jenis fitobiotik hasil ekstraksi, etanol merupakan pelarut yang cocok untuk zat-zat aktif dalam *Z. zerumbet* yang berupa alkaloid, flavonoid, tannin dan terpenoid (Pasril dan Yuliasanti, 2014), dan merupakan pelarut serbaguna yang memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang luas, mulai dari senyawa non polar sampai polar (Saifudin *et al.*, 2011).

Hasil penelitian menyebutkan bahwa zat aktif yang terkandung dalam *Z. zerumbet* antara lain *zerumbon*, *zerumbon epoxide*, *diferuloylmethane*, *feruloyl-p-coumaryl-methane*, *di- p- coumaryl- methane sesquiterpenoid*, *flavonoid*, *senyawa aromatik*, yaitu *hydroxybenzaldehyde* dan *vanillin* (Koga *et al.*, 2016). Ekstrak etanol *Z. zerumbet* juga mengandung senyawa *sesquiterpen*, *zederone*, *phenolic*, *saponin* dan *terpenoid* (Ganapathy and Nair, 2017). Ekstrak *Z. zerumbet* berperan sebagai antimikrobal selektif, sehingga memperbaiki lingkungan flora intestinal, tanpa mempengaruhi berat dan panjang intestinum tenue, meningkatkan pencernaan dan absorpsi nutrisi (Eltazi *et al.*, 2014).

Pada uji *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dari ekstrak etanol kasar, fraksi petroleum eter dan fraksi chloroform dari *Z. zerumbet* menunjukkan

konsentrasi antara 128-256 µg/ml terhadap bakteri Gram negatif, yaitu *V. parahemolyticus*, *E. coli*, *S. typhimurium* dan *P.aeruginosa* (Kader *et al.*, 2011).

Ekstrak kasar etanol dari *Z. zerumbet* sangat mungkin digunakan sebagai antibakterial untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen Gram negatif (Zhao *et al.*, 2017), termasuk *Salmonella spp* pada broiler, karena dinding sel bakteri tersebut terdiri atas lipopolisakarida (LPS) yang bersifat hidrofilik. Penggunaan berbagai konsentrasi etanol menghasilkan profil senyawa fitobiotik hasil ekstrak yang berbeda, yang mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak *Z. zerumbet*.

Ekstraksi antibakteri yang terkandung dalam *Z. zerumbet* dengan pelarut etanol pada konsentrasi yang tepat diprediksi menghasilkan ekstrak efektif untuk membunuh serovar *Salmonella spp*, sehingga bisa digunakan sebagai *feed additive* pengganti AGP dalam pakan ayam broiler. Harapan yang jauh lebih penting adalah ekstrak *Z. zerumbet* bisa menjadi *green product* sebagai *phytobiotic growth promoters* (PGP) yang mampu memperbaiki kesehatan ayam broiler, menekan kasus resistensi bakteri, residu antibiotik, menurunkan prevalensi *Salmonellosis* sekaligus *foodborne disease* pada manusia yang pada akhirnya bisa menjamin keamanan pangan masyarakat.

Penelitian tentang ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* sebagai antibakteri terhadap serovar *Salmonella spp*, penyebab *foodborne disease* yaitu *S. typhimurium* dan *S. enteritidis* secara *in vitro* masih sangat jarang dilakukan, demikian pula secara *in vivo*, sebagai *feed additive* pada ayam broiler, yang mengkaji pengaruhnya terhadap berbagai aspek kesehatan yang meliputi morfologi intestinal, pencernaan zat gizi, profil darah, dan histopatologi organ visceral yang masih terbatas informasinya.

Berdasarkan latar belakang, peneliti berusaha mengangkat kajian tentang ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive*, yang bisa berperan sebagai antibakteri terhadap *Salmonella spp* pada ayam broiler, sehingga diharapkan bisa memperbaiki kesehatan, termasuk perbaikan kerusakan intestinum dan organ-organ limfoid akibat infeksi *Salmonella spp*, ditunjang peran zat aktif dalam ekstrak dalam menstimulir aktivitas enzim-enzim pencernaan maka diharapkan ekstrak mampu memperbaiki proses metabolisme dan pencernaan zat gizi broiler. Perbaikan pencernaan bisa

menciptakan profil serum darah yang sehat, yang pada akhirnya terjadi perbaikan performa pada broiler penderita Salmonellosis.

B. Perumusan Masalah

Upaya pencegahan salmonellosis pada ayam broiler dengan penambahan AGP sebagai *feed additive* telah menimbulkan berbagai dampak negatif, yaitu resistensi bakteri, semakin sulitnya pengendalian Salmonellosis, peningkatan kasus *foodborne disease*, peningkatan residu antibiotik dalam daging dan organ visceral yang mengancam kesehatan masyarakat. Diperlukan antibiotik alami yang terkandung dalam ekstrak etanol *Z. zerumbet* sebagai pengganti AGP dalam pengendalian salmonellosis untuk perbaikan performa dan kesehatan broiler. Beberapa hal yang dapat diidentifikasi dalam perumusan masalah, yaitu:

1. Berapa persen konsentrasi etanol sebagai pelarut yang mampu mengekstraksi antibakteri alami yang terkandung dalam *Z. zerumbet* dan berapa konsentrasi ekstrak *Z. zerumbet* terbaik dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella spp* secara in vitro?
2. Bagaimanakah karakterisasi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* yang terbaik menghambat pertumbuhan *Salmonella spp.* secara in vitro?
3. Apakah penambahan ekstrak *Z. zerumbet* memiliki potensi sebagai *feed additive* dalam pengendalian Salmonellosis untuk perbaikan performa dan kesehatan pada ayam broiler?

C. Orisinilitas Penelitian

Penelitian tentang pemberian ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* pada ayam broiler masih sangat terbatas, penelitian yang sudah banyak dilakukan pada umumnya berupa suplementasi serbuk herbal, tanpa diekstrak pada pakan sebagai alternatif pengganti antibiotik untuk perbaikan performans produksi dan hanya terbatas pada herbal tertentu, seperti bawang putih.

Penambahan serbuk bawang putih (*garlic powder*/GP) terbukti meningkatkan performans ayam broiler (Issa dan Omar, 2012; Stana *et al.*, 2011; Suriya *et al.*, 2012 dan Goodarzi *et al.*, 2014). Penambahan ekstrak Allicin dosis 50 mg/kg pakan juga bisa memperbaiki pertumbuhan, efisiensi pakan, pencernaan gizi dan efisiensi

ekonomi pada broiler (El-Katcha *et al.*, 2016), namun tidak mempengaruhi total lipid dan trigliserida plasma (Canogullari *et al.*, 2010). Suplementasi GP 10 g/kg pakan mampu memperbaiki morfologi usus halus ayam broiler akibat defisiensi choline (Navidshad *et al.*, 2017).

Masih sangat jarang penelitian penambahan ekstrak herbal serbuk pada pakan ayam broiler, Manan *et al.* (2012) telah membuktikan bahwa infusi campuran herbal yang terdiri dari *Berberis lyceum*, *Allium sativum*, *Solanum nigrum* dan *Terminalia arjuna* bisa meningkatkan fungsi hati dan memperbaiki profil lipid pada ayam broiler. Penelitian tentang ekstrak *Z. zerumbet* pada umumnya masih berorientasi pada aktivitasnya sebagai antibakteri, antifungal, antioksidan dan antiparasit yang dilakukan secara in vitro. Hasil-hasil penelitian tentang ekstrak *Z. zerumbet* yang telah dilakukan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil-hasil Penelitian Ekstrak *Zingiber zerumbet* Secara In vitro dan In vivo

No	Peneliti	Judul Penelitian	Kesimpulan penelitian	Sumber
1	Kader <i>et al.</i> , 2011	Antimicrobial Activities of the Rhizoma Extract of <i>Zingiber zerumbet</i> Linn	Ekstrak kasar etanol dari <i>Z. zerumbet</i> memiliki sifat antibakteri dan antifungal yang lebih baik daripada fraksi chloroform dan petroleum eter.	Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine, 409-412
2	Chang <i>et al.</i> , 2012	Acute and 28-Day Subchronic Oral Toxicity of An Ethanol Extract of <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Smith in Rodents	Ekstrak etanol dari <i>Z. zerumbet</i> dengan dosis toksisitas akut (15 g/kg berat badan dan dosis toksisitas sub kronik (3000 mg/kg berat badan) pada tikus aman digunakan	Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol. 2012. Article ID 608284, 11 pages. Doi : 10.1155/2012/608284
3	Ghasemzadeh <i>et al.</i> , 2016	Variation in Secondary Metabolite Production as Well as Antioxidant and Antibacterial Activities of <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) at Different Stages of Growth	Aktivitas antioksidan semakin menurun dengan meningkatnya umur tanaman pada ekstrak daun <i>Z. zerumbet</i> , sebaliknya aktivitas antioksidan meningkat dengan meningkatnya umur tanaman pada ekstrak rhizoma. Ekstrak daun dan rhizome <i>Z. zerumbet</i> menunjukkan aktivitas anti bakteri	BMC Complementary and Alternative Medicine (2016), 16: 104. Doi : 10.1186/s.12906-016-1072-6

No	Peneliti	Judul Penelitian	Kesimpulan penelitian	Sumber
			terhadap Gram positif dan Gram negatif.	
4	Udomthana dech <i>et al.</i> , 2015	Antibacterial Properties The Extracts from Some Zingiberous Species Thailand Againsts Bacteria Causing Diarrhea and Feed Poisoning in Human	<i>Z. notatum</i> , <i>Z. attensii</i> dan <i>Z. zerumbet</i> tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang diuji. <i>Z. officinale</i> , <i>Z. "Phai Chompu"</i> dan <i>A. galanga</i> memiliki aktivitas antibakteri Gram positif dan negative. <i>K. parviflora</i> hanya menunjukkan aktivitas antibakteri Gram positif.	International Transaction Journal of Engineering Management & Applied Science & Technologies, Vol. 6 No. 5. ISSN 2228.9860. eISSN 1906-9642. Online Available at http://TUENER.COM/V06/203.pdf .
5	Hasheimi <i>et al.</i> , 2013	Dietary Supplementation of <i>Zingiber officinale</i> and <i>Zingiber zerumbet</i> to Heat –Stressed Broiler Chickens and Its Effect on Heat Shock Protein 70 Expression, Blood Parameters and Body Temperature	<i>Z. officinale</i> dan <i>Z. zerumbet</i> dapat meningkatkan induksi HSP70 pada ayam broiler penderita stress panas.	Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2012. DOI: 10.111/j.1439-0396.2012.01302.x.
6	Ganapathy dan Nair, 2017	Curcuminoids in <i>Zingiber zerumbet</i> Rhizome : Bioguide Fractionation and Chromatographic Identification of Antimicrobial and Antioxidant Metabolites	Kurkuminoid rhizome dari <i>Z. zerumbet</i> bisa dideteksi pada ekstrak non polar dengan benzene, sedangkan terpenoid bisa dideteksi dengan ekstrak polar, isopropanol.	Journal of Herbs, Species & Medicinal Plants. DOI : 10.1080/10496475.2017.1283555

Orisinilitas ini dilaksanakan untuk mendapatkan ekstrak antibakteri yang terkandung dalam *Z. zerumbet* yang berpotensi sebagai *feed additive* untuk pengendalian Salmonelosis pada ayam broiler yang bisa diharapkan menjadi *green product* berupa *phytobiotic growth promoters* (PGP) untuk menggantikan peran AGP.

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah menganalisis dan mengevaluasi potensi ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* alami berupa PGP dalam upaya pengendalian Salmonellosis untuk perbaikan performa dan kesehatan ayam broiler.

2. Tujuan Khusus

Secara khusus tujuan penelitian suplementasi ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* untuk pengendalian Salmonellosis pada ayam broiler adalah:

- a. Menguji konsentrasi etanol terbaik sebagai pelarut yang mampu mengekstraksi antibakteri alami yang terkandung dalam *Z. zerumbet* dan konsentrasi ekstrak terbaik dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella spp* secara in vitro.
- b. Menganalisis karakterisasi fitobiotik yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* yang memiliki daya hambat tertinggi terhadap *Salmonella spp* sebagai PGP.
- c. Mengevaluasi potensi PGP dalam ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* pengganti AGP dalam pengendalian Salmonellosis untuk perbaikan performa dan kesehatan ayam broiler.

E. Manfaat Penelitian

Ekstrak *Z. zerumbet* belum banyak digunakan sebagai *feed additive* alami pengganti AGP untuk pencegahan Salmonellosis pada ayam broiler. Hasil penelitian ini diharapkan bisa memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu untuk memperluas pemanfaatan *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* yang dapat menekan kejadian salmonellosis pada ayam broiler, sehingga ayam broiler yang terinfeksi serovar *Salmonella spp* tetap bisa mempertahankan kesehatan intestinum, aktivitas enzim pencernaan, kecernaan, biokimiawi darah, fungsi hati dan respon imun, yang pada akhirnya dapat menekan angka morbiditas dan memperbaiki performa ayam broiler.

F. Batasan Variabel

Salmonella spp yang digunakan pada penelitian ini adalah *Salmonella spp* penyebab *foodborne disease* yang mengancam keamanan pangan masyarakat, yaitu serovar *S. enteritidis* ATCC 31194 dan *S typhimurium* ATCC 23564 yang diperoleh

dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur. Pertumbuhan *Salmonella spp* secara *in vitro* diukur berdasarkan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dengan metode mikrodilusi dan infusi.

Fitobiotik yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* secara kualitatif diketahui jenisnya dengan metode penapisan fitobiotik dan persentase kelimpahannya diketahui berdasarkan kromatogram hasil analisis *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS).

Pemeriksaan karakterisasi ekstrak *Z. zerumbet* meliputi pengujian parameter spesifik (identitas, organoleptik, penapisan fitobiotik) dan non spesifik (kadar abu total, kadar abu yang tidak larut dalam asam, bobot jenis, kadar air, kadar sisa pelarut, total cemaran mikroba, cemaran aflatoksin, dan cemaran logam).

Variabel kesehatan yang diamati dan diukur adalah:

- a. Kesehatan intestinum, meliputi perhitungan jumlah koloni serovar *Salmonella* pada feses, rasio tinggi villi dan kedalaman kripte Lieberkuhn, ketebalan epithelium, aktivitas enzim (lipase, protease dan amilase) pada intestinum tenue
- b. Kesehatan biokimiawi serum yang meliputi profil protein (total protein plasma, kadar albumin dan globulin), nilai AST dan ALT, profil lemak serum (kadar trigliserida, kolesterol, HDL dan LDL).
- c. Profil sel-sel leukosit (neutrophil, eosinophil, basophil, monosit dan limfosit).

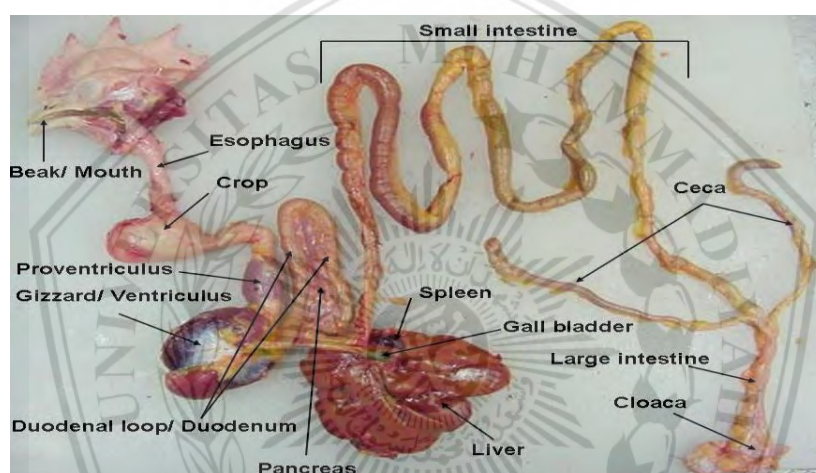
Variabel performa yang diamati dan diukur yaitu :

- 1) Kecernaan yang diukur meliputi nilai biologis protein, retensi nitrogen, pencernaan lemak kasar, bahan kering dan serat kasar.
- 2) Indeks organ visceral yang meliputi timus, hati, limfa, pancreas, usus halus dan bursa.
- 3) Tampilan produksi ayam broiler, yang meliputi konsumsi pakan, konversi pakan, pertambahan bobot badan harian (PBBH), bobot akhir dan persentase karkas.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Fisiologi Sistem Pencernaan Unggas

Sistem pencernaan bekerja dalam menyerap nutrisi dalam pakan sehingga mampu memenuhi kebutuhan ayam (Jacob dan Pescatore, 2013), terdiri atas saluran cerna utama, yaitu mulut, oesofagus, ingluvies, proventrikulus, ventrikulus, intestinum tenue (duodenum, jejunum, illeum), coecum, intestinum crassum, dan cloaca, dilengkapi dengan kelenjar tambahan, yaitu hati, pankreas dan kantung empedu (Zainuddin *et al.*, 2015). Organ-organ internal yang berperan dalam sistem pencernaan unggas secara lengkap ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Organ internal sistem pencernaan unggas (Sumber: Jacob dan Pescatore (2013)).

1. Saluran Pencernaan

Saluran pencernaan ayam memiliki panjang berkisar 245-255 cm, tergantung pada umur dan jenis unggas, terdiri atas tiga macam jenis pencernaan, yaitu (1) pencernaan secara mekanik/ fisik, merupakan pencernaan yang dilakukan oleh serabut otot, terutama terjadi di gizzard yang dibantu oleh bebatuan, (2) pencernaan secara kimiawi/enzimatik, yaitu pencernaan yang dilakukan oleh enzim pencernaan yang dihasilkan kelenjar saliva di mulut (amylase), proventriculus dan gizzard (pepsin dan lipase), duodenum (amylase, tripsin, kolagenase, garam empedu dan lipase), jejunum (maltase, sukrase, lactase, peptidase), yang berfungsi memutuskan

ikatan protein, lemak, dan karbohidrat, serta (3) pencernaan secara mikrobiologik, yaitu pencernaan yang terjadi di sekum dan kolon (Porter, 2012).

Pencernaan pakan dimulai dari paruh, diteruskan di mulut, terdapat kelenjar yang menghasilkan saliva dengan kandungan enzim amilase dalam konsentrasi rendah, sehingga proses pencernaan karbohidrat secara enzimatik di mulut sangat terbatas (Svihus, 2014; Yasin, 2010).

Esofagus adalah saluran fleksibel yang menghubungkan mulut dengan ingluvies, sebagai penyimpan makanan sementara, karena lambung (proventrikulus dan ventrikulus) ayam tidak memiliki kapasitas penyimpanan yang besar. Ingluvies tidak memiliki peran langsung dalam sistem pencernaan, karena tidak mensekresi enzim maupun penyerapan nutrisi, namun dapat melumat pakan sehingga membantu proses penggilingan dan kerja enzim dalam saluran pencernaan (Svihus, 2014; Jacob dan Pescatore, 2013).

Pencernaan makanan selanjutnya menuju ke proventriculus, yang merupakan perut glandular (*glandula stomach*), perbesaran dari bagian belakang esophagus, menghasilkan lendir untuk membantu proses penyaluran makanan menuju saluran selanjutnya dan menjaga kelembaban makanan. Pada bagian ini tidak terjadi pencernaan secara mekanik melainkan terjadi pencernaan secara kimiawi, menghasilkan HCl dan enzim pencernaan yaitu pepsin dan renin (Jacob dan Pescatore, 2013; Soeharsono, 2010; Sari dan Ginting, 2012).

Semakin banyaknya asam fitat dan serat kasar dalam ransum basal yang diberikan kepada ayam broiler akan memperbesar ukuran proventrikulus, dikarenakan proventrikulus bekerja lebih keras untuk memproduksi asam hydrochloric (HCl) dan pepsin, dan enzim yang dapat memecah protein, fosfor yang terikat asam fitat dan serat kasar pakan. Semakin lama kerja pankreas merombak asam fitat menjadi senyawa yang diperlukan oleh tubuh ternak menyebabkan ukuran proventrilukus menjadi besar (Sari dan Ginting, 2012).

Keutuhan epitel pada proventrikulus dan duodenum dapat melindungi dari infeksi mikroorganisme dan meningkatkan reabsorpsi zat makanan. Adanya pertambahan diameter kelenjar proventrikulus dapat meningkatkan sekresi HCl dengan pH sekitar 2,5 ikut mendukung dalam memperkecil kemungkinan infeksi dari mikroorganisme patogen (Porter, 2012).

Ventrikulus terdiri dari dua set otot kuat yang berfungsi sebagai gigi, sering disebut juga *muscular stomach* (lambung otot), memiliki kemampuan terbatas dalam menyimpan pakan, yaitu antara 5 sampai 10 gram pakan, mengandung material bersifat membantu dalam penggilingan, seperti grit, karang, dan kerikil. Pakan yang masuk ke dalam *gizzard* digiling dan ditumbuk bersama cairan (enzim) yang dikeluarkan oleh proventrikulus. Partikel-partikel kecil yang larut didorong menuju usus halus, sedangkan partikel tidak larut dengan baik seperti batu-batu kecil atau pasir tinggal dalam *gizzard* beberapa jam (Murwani, 2010; Porter, 2012; Jacob dan Pescatore, 2013). Kandungan fitat yang tinggi pada pakan unggas memaksa kerja ventrikulus semakin lama dalam mencerna makanan, sehingga terjadi pembesaran ukuran ventrikulus (Sari dan Ginting, 2012).

Usus merupakan salah satu organ sistem pencernaan dan tempat penyerapan nutrisi, dimana fungsi utama saluran pencernaan, yaitu mencerna dan memecah makanan menjadi lebih kecil dan sederhana sehingga dapat diserap oleh tubuh (Svihus, 2014). Pencernaan makanan terjadi di duodenum, sedangkan penyerapan nutrisi terjadi pada usus bagian belakang yaitu jejunum dan ileum, untuk tujuan tersebut duodenum menerima enzim pencernaan dari pankreas, yaitu amilase, lipase dan protease (Porter, 2012), yang juga menghasilkan bikarbonat untuk menetralkan asam hidroklorida dari proventrikulus (Jacob dan Pescatore, 2013).

Kandungan serat kasar sangat mempengaruhi kinerja usus halus, semakin tinggi serat kasar dalam pakan mengakibatkan peningkatan beban kerja, sehingga bobotnya meningkat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi persentase penggunaan daun murbei pada pakan broiler meningkatkan bobot usus halus secara keseluruhan (duodenum, jejunum, ileum) (Has *et al.*, 2014), hal ini karena semakin tingginya kandungan serat kasar, sehingga menurunkan kecernaan yang menyebabkan kerja usus halus menjadi lebih berat untuk memaksimalkan pencernaan (Mirnawati *et al.*, 2013).

Tinggi rendahnya pH di usus halus mempengaruhi kehidupan mikroorganisme, pada lingkungan pemeliharaan yang normal, saluran usus halus anak ayam telah terkolonisasi dengan mikroorganisme, terdapat sekitar 100-400 jenis mikrob yang dikelompokkan pada mikrob yang menguntungkan (nonpatogen) dan yang merugikan (patogen) (Emma *et al.*, 2013). Menurut Porter (2012), penyerapan

karbohidrat sebagian besar terjadi di duodenum, sedangkan penyerapan asam amino, kalsium dan fosfor terjadi di jejunum dan ileum.

Penambahan asam jeruk nipis pada pakan broiler meningkatkan tinggi villi dan jumlah villi, meskipun tidak signifikan, karena dosis yang diberikan rendah, hal ini berkaitan dengan penurunan pH ileum, yang cocok untuk pertumbuhan bakteri non pathogen (Emma *et al.*, 2013).

Usus besar adalah tempat terakhir penyerapan nutrisi, yaitu asam amino dan karbohidrat yang terbatas, terjadi penambahan air, selanjutnya sisa pakan menuju ke kloaka, yang merupakan gabungan saluran urogenital, tempat keluar feses, dan saluran reproduksi, dimana pencampuran limbah pencernaan bersamaan dengan limbah dari sistem saluran kencing (urat) dikeluarkan menjadi ekskreta (Porter, 2012; Jacob dan Pescatore, 2013).

2. Kelenjar Pencernaan

Ayam memiliki kelenjar eksokrin pankreas, yang menempel pada *duodenal loop*, mensekresikan *pancreatic juice* yang mengandung enzim amilase, lipase, dan tripsin, khemotripsin. Selain itu pankreas berfungsi juga sebagai kelenjar endokrin dengan mensekresikan hormon insulin dan glukagon, yang penting dalam pengaturan gula darah (Jacob dan Pescatore, 2013).

Hati ayam terletak dekat dengan ventriculus, terdiri atas dua lobus dengan berat sekitar 1,7-2,8 persen dari bobot hidup, tergantung bangsa, umur dan kesehatan individu ayam. Warna hati menentukan status kesehatan ayam, hati yang normal berwarna coklat kemerahan, hati yang berlemak berwarna kekuningan. Hati merupakan pusat metabolisme tubuh, baik metabolisme karbohidrat, protein, lemak maupun vitamin, tempat pembentukan dan destruksi eritrosit, sekresi empedu, sintesis besi, serta pusat detoksifikasi (Porter, 2012).

Garam-garam empedu berperan dalam proses emulsi asam lemak rantai panjang, monogliserida, digliserida dan kolesterol yaitu glikokholat dan taurokholat yang terbuat dari kolesterol ditambah glisin atau taurin. Empedu mengandung garam-garam empedu yang berfungsi membantu enzim lipase dalam mencerna lemak dan absorpsi vitamin A, D, E dan K, yang larut dalam lemak (Jacob dan Pescatore, 2013).

B. Salmonellosis Pada Unggas

Bakteri genus *Salmonella* terdiri dari banyak serovar, jumlahnya mencapai lebih dari 2.400 serovar yang diidentifikasi secara serologik berdasarkan variasi antigen somatik (O), flagela (H) dan kapsul (Vi). Serovar yang dapat menimbulkan penyakit pada hewan relatif sedikit, yaitu *S. pullorum* dan *S. gallinarum* pada unggas yang menyebabkan *fowl typhoid*, sedangkan *S. typhimurium* dan *S. enteritidis* menginfeksi semua jenis hewan ternak dan manusia. Diperkirakan sekitar 75% dari kasus infeksi *Salmonella* manusia disebabkan oleh produk makanan yang terkontaminasi yang berasal dari daging sapi, babi, unggas dan telur (Muna *et al.*, 2016, Basri *et al.*, 2016).

Wabah serotipe Enteritidis umumnya dikaitkan dengan konsumsi telur yang kurang matang, infeksi serotipe Javiana umumnya akibat konsumsi buah, sedangkan infeksi serotipe Typhimurium dan Newport berhubungan dengan konsumsi daging ayam dan sapi (Brown *et al.*, 2016).

Gejala klinis Salmonellosis pada manusia berupa gastroenteritis disebabkan oleh setidaknya 150 serotipe *Salmonella*, namun *S. enteritidis* adalah serotipe yang paling umum. Gejalanya meliputi feses berair, kadang-kadang diare berdarah, demam dan sakit perut, dan biasanya terjadi 18-48 jam setelah konsumsi bakteri, infeksi umumnya berlangsung 2-5 hari. Setelah kesembuhan, bakteri bertahan hingga 12 minggu dalam tubuh, dikeluarkan lewat feses, kurang dari 10% pasien dilaporkan sebagai *carrier* untuk periode yang lebih lama (Abulreesh, 2014).

Infeksi *S. typhimurium* pada manusia sering disertai invasi ke dalam aliran darah (bakteremia), menyebabkan demam, kedinginan, sakit tubuh, kehilangan nafsu makan, dan penurunan berat badan. Pada anak-anak, sering menginfeksi otak dan meningitis dan mungkin pneumonia, osteomielitis, radang sendi septik, perikarditis, pielitis, peritonitis, otitis media, kolesistitis, endoftalmitis, abses kulit (Udomthanadech *et al.*, 2015)

Unggas sering terinfeksi *Salmonella* melalui konsumsi pakan yang terkontaminasi, kontaminasi silang antar kandang, atau selama penyembelihan dan pemrosesan. Infeksi *Salmonella* secara ingesta, akan diikuti oleh kolonisasi di usus, bakteri dapat menembus epitel mukosa yang menyebabkan infeksi sistemik, sehingga terjadi kolonisasi di limpa dan hati (Muna *et al.*, 2016), selanjutnya bakteri diekskresi

bersama feses, ditransmisi melalui insekta atau hewan lain sehingga mengkontaminasi air, termasuk air yang dikonsumsi ternak dan manusia (Abulreesh, 2012).

Salmonella pullorum menyebabkan *fatal septicemia* atau *white diarrhea*, gejala klinis terlihat jelas pada anak ayam, antara lain penurunan nafsu makan, depresi, gangguan pernapasan, diare kapur, kematian dini setelah menetas. Pada ayam petelur fase layer, terjadi penurunan produksi telur, fertilitas dan daya tetas telur yang dihasilkan. Infeksi *S. pullorum* bersifat sistemik, menyebabkan peritonitis, pembesaran lien dan hati, yang melanjut hemorrhagi, dan mortalitas bisa mencapai 100 persen pada kasus yang berat (Andino dan Hanning, 2015).

Gejala klinis yang terlihat pada ayam yang terinfeksi *S. gallinarum* antara lain depresi, anoreksia, bulu acak-acakan, dan diare berwarna kehijauan-kuning. Bakteri bisa invasi ke beberapa organ, antara lain hati, limpa, ginjal, dan folikel ovarium, menyebabkan peningkatan leukosit (leukositosis) darah perifer sebagai respons inflamasi. Limfopenia terjadi pada hari ke 35 dan 42 pasca infeksi, hal ini disebabkan oleh stress akibat infeksi bakteri tersebut dan menginduksi pelepasan *Adreno Cortico Tropic Hormone* (ACTH) yang menghancurkan limfosit (Chiroma *et al*, 2017).

Pada tahun 1980 wabah *S. enteritidis* secara dramatis meningkat secara global dan patogen muncul sebagai ancaman serius bagi industri perunggasan dan kesehatan masyarakat. Sejak saat itu infeksi terus meningkat dari waktu ke waktu, di seluruh dunia dan masih terus meningkat meskipun secara keseluruhan insiden *Salmonella* secara umum telah menurun (Muna *et al.*, 2016).

Salmonella enteritidis termasuk klas *Enterobacteriaceae*, memiliki bentuk batang, ukuran 2-4 μ m, Gram negatif, motil, dengan flagella peritrikus, non spora, oksidase negatif, katalase positif, fakultatif aerobik, tumbuh dengan baik pada suhu 35-37° C dan pH 6,5-7,5, bisa memfermentasi laktosa menjadi asam sulfit dan gas, dekarboksilasi lisin dan hidrolisis urea, sitrat bisa digunakan sebagai sumber karbon (Abulreesh, 2012; Andino and Hanning, 2015). Sebagian besar (> 90%) dari serovar adalah fermentor non-laktosa, hal ini dapat dideteksi menggunakan Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (Abulreesh, 2012).

Lebih dari 70% Salmonellosis manusia di AS telah dikaitkan dengan konsumsi ayam, kalkun, atau telur yang terkontaminasi, dari tahun 1998 hingga

2008, sekitar 145 kasus akibat konsumsi daging ayam dan kira-kira 117 kasus disebabkan konsumsi telur. Serovar yang paling sering diisolasi dari daging ayam dan telur adalah Enteritidis dan diikuti Typhimurium (Andino dan Haning, 2015).

Infeksi *S. enteritidis* bisa terjadi secara per oral karena mengkonsumsi pakan atau air minum yang tercemar bakteri, kolonisasi bakteri yang tertelan terjadi di saluran pencernaan dan peritoneum. Bakteri bisa tetap hidup dalam makrofag, selanjutnya menembus dinding usus, menyebabkan reaksi inflamasi, memasuki sistem limfatik sampai ke pembuluh darah, menimbulkan bakterimia. Bakteri menyebar ke berbagai organ, termasuk organ reproduksi, seperti ovarium dan oviduk. Kontaminasi telur diyakini melalui saluran reproduksi, terjadi sebelum pengendapan cangkang, setelah penularan isi sel telur (kuning telur atau albumen). (Thaha, 2016)

Secara horizontal, *S. enteritidis* dalam saluran pencernaan diekskresikan melalui feses, selanjutnya menempel pada permukaan kerabang telur, mengadakan penetrasi ke dalam telur melalui pori-pori kerabang telur tanpa *cuticle*, karena *cuticle* berperan mencegah masuknya bakteri dengan menutup pori-pori, sebagai akibat penurunan permeabilitas kerabang telur (Gast *et al.*, 2017). Bakteri ini merupakan sumber utama pencemaran lingkungan, terutama lingkungan berair, sehingga hewan atau manusia yang mengkonsumsi air yang tercemar menjadi sumber infeksi terus menerus dalam waktu yang lama, karena bakteri mengadakan kolonisasi di sekum penderita (Andino dan Hanning, 2015).

Stres akibat kepadatan yang tinggi berpotensi meningkatkan kejadian invasi *S. enteritidis* pada ayam broiler, hal ini disebabkan stres menimbulkan immunosupressif, ternak peka terhadap penyakit, yang bisa dibuktikan dengan penurunan berat bursa fabricius, sebagai organ limfoid yang bertanggung jawab terhadap imunitas (Gomes *et al.*, 2014).

Pada tahap awal infeksi *Salmonella*, terjadi produksi sitokin, seperti interferon (IFN) γ , interleukin (IL)- 1β , IL-8, dan *tumor necrosis factor* (TNF)- α , sangat penting untuk mengendalikan pertumbuhan dan penyebaran *Salmonella* di tubuh inang (Hu *et al.*, 2015). IFN- γ adalah sitokin Th1 yang merangsang makrofag mensekresi oksidan dengan aktivitas antimikroba dan diproduksi oleh sel pembunuh alami dan limfosit T. Interleukin - 1β adalah mediator utama peradangan pada burung

dan mamalia, terutama diproduksi oleh monosit, makrofag jaringan, dan enterosit, sebagai anggota penting dari kemokin yg memiliki aktivitas kemotaksis dan memiliki struktur yang mirip dengan sitokin (Zhao *et al.*, 2017). Faktor TNF- α yang diinduksi LPS, sebagai salah satu jenis indikator vital untuk mengevaluasi respons inflamasi pada ayam ketika terinfeksi patogen (Feng *et al.*, 2016).

Mukosa intestinum merupakan pertahanan primer melawan *Salmonella spp*, dimana kolonisasi bakteri terjadi di percabangan sekum, distal intestinum, sebelum ke kolon, selanjutnya lewat sistem limfe bakteri menginfeksi organ lien dan hati. Beberapa protein fimbrial (sefA) yang secara in vivo menunjukkan peran dalam kolonisasi di sekum antara lain SEF 14, SEF 17 dan SEF 21, terbukti memediasi *Salmonella* dalam menyebabkan perubahan metabolisme dan suhu tinggi pada hospes (Elazomi *et al.*, 2016).

Sistem imun pada unggas dikontrol oleh sejumlah gen, salah satunya adalah Toll-like receptor 4 (TLR4), yang mampu mengenali LPS dari bakteri Gram negatif, termasuk *Salmonella*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa telah terjadi mutasi gen TLR4 pada manusia dan tikus, sehingga terjadi penurunan kemampuan mengenali LPS dari *Salmonella*, individu menjadi sensitif dan mudah terinfeksi *Salmonella* (Ulupi *et al.*, 2013). TLR4 memainkan peran penting dalam respon imun bawaan dan karenanya kemungkinan terlibat pada ayam muda yang berisiko infeksi *Salmonella* (Li *et al.*, 2010).

Beberapa mekanisme *Salmonella* dalam mengembangkan resistensi termasuk produksi enzim yang dapat menurunkan permeabilitas sel terhadap antibiotik, aktivasi pompa eflux antimikroba, dan produksi β -laktamase untuk mendegradasi struktur kimia agen antimikroba (Andino dan Hanning, 2015).

C. Fitobiotik dalam Lempuyang Gajah (*Z. zerumbet* L. Smith)

Ekstrak etanol pada *Z. zerumbet*, mengandung berbagai senyawa aktif, antara lain alkaloid, saponin, flavonoid, lipid, polifenol dan terpenoid. Senyawa Kaempferol dan Kaempferol-3-O-methyl termasuk dalam kelompok flavonoid dan merupakan sub Klas polifenol (Chang *et al.*, 2012). *Zingiber zerumbet* mengandung berbagai jenis terpenoid, antara lain *pinene*, *camphor*, *linalool*, *zerumbone*, *limonene*, *camphene*, *caryophyllene*, *3-carene*, *4-terpineol* dan *eucalyptol* (Singh *et al.*, 2014).

Antibakteri dalam herbal menginaktivasi fungsi material genetik, komponen bioaktif mengganggu pembentukan asam nukleat, yaitu RNA dan DNA, gangguan transformasi genetik, sehingga merusak materi genetik yang akan mengganggu proses pembelahan sel dan pada akhirnya bakteri mati (Saraswati, 2014).

Kader *et al.* (2011) menyatakan bahwa fitobiotik hasil ekstraksi lempuyang (*Zingiber zerumbet* SM) menggunakan etanol terbukti memiliki sifat antibakterial dan antifungal. Sebagaimana dinyatakan oleh Puspitasari (2011), bahwa ekstrak etanol rimpang *Z. zerumbet* mempunyai aktivitas antibakteri, ekstrak tersebut mengandung senyawa golongan saponin, flavonoid, polifenol, minyak atsiri dan zerumbon. Uji mikrobiologi yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak rimpang *Z. zerumbet* bersifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*.

Sutardi *et al.* (2015) melaporkan bahwa ekstrak lempuyang kering dengan etanol memiliki daya hambat yang kuat terhadap *Mycoplasma gallisepticum* pada konsentrasi 7,8 mg/ml untuk ketiga jenis lempuyang, sedangkan pada ekstrak lempuyang segar dengan etanol juga, MIC tercapai pada konsentrasi 15,6 mg/ml untuk *Zingiber zerumbet* (L) Smith dan *Zingiber Americanus* BL, serta 31,2 mg/ml untuk *Zingiber aromaticum* Vahl. Etanol merupakan pelarut yang cocok untuk zat-zat aktif dalam lempuyang, yang berupa alkaloid, flavonoid, tannin dan terpenoid. Mekanisme kerja zat aktif tersebut dengan menghambat sintesis dinding sel, menghambat fungsi membran sel dan menghambat sintesis protein (Pasril dan Yuliasanti, 2014)

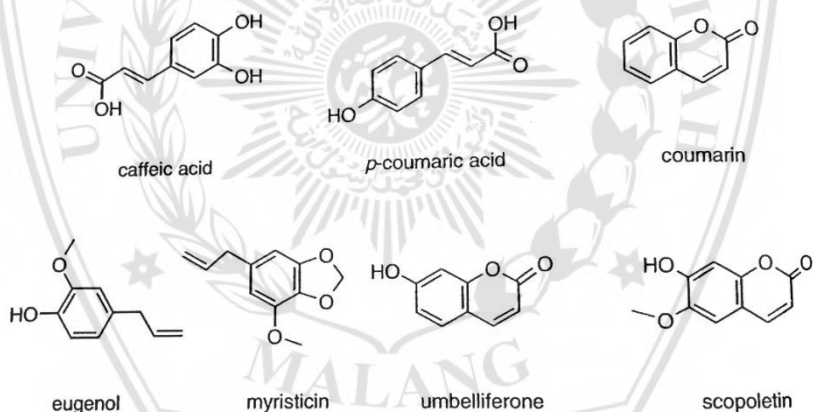
Fenol adalah substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Fenol bersifat racun bagi mikroba sebab dapat menghambat aktivitas enzim, berikatan dengan gugus sulfidril dan protein, dengan demikian proses pembentukan dinding sel akan terhambat sehingga menyebabkan lisis pada dinding sel yang sudah terbentuk (Febriyati, 2010).

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba, yang merusak membran sitoplasma dan membunuh sel, sedangkan flavonoid diduga memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Aiello dan Susan, 2012).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia tanaman yang mengandung nitrogen (N), bersifat basa, bisa ditemukan di bagian akar, batang, daun, biji, bunga, ranting, kulit batang, sebagai racun yang bermanfaat bagi tanaman untuk perlindungan diri terhadap serangan serangga, pengatur pertumbuhan, sumber nitrogen dan unsur-unsur lain yang dibutuhkan tanaman (Ningrum *et al.*, 2016).

Beberapa klas alkaloid berdasarkan kerangka karbon, alkaloid diklasifikasikan menjadi tiga klas, yaitu 1) alkaloid yang sebenarnya (true alkaloid), disintesis dari asam-asam amino, contoh yang terkenal adalah atrophine, nikotin dan morphine, 2) Prptoalkaloid, struktur berupa cincin heterosiklik, mengandung unsur N, merupakan turunan asam amino, contohnya ephedrine, mescaline, adrenaline, 3) Pseudoalkaloid, bukan turunan asam amino, beberapa contohnya antara lain caffeine, theobromine, theophylline (Julianto, 2019). Klas-klas alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Klas-klas Alkaloid (Cseke *et al.*, 2006).

2. Flavonoid

Berdasarkan strukturnya, semua flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon, memiliki sejumlah kesamaan sifat. Flavonoid terutama berupa senyawa larut dalam air, dapat diekstraksi dengan etanol 70%, merupakan fenol, sehingga warnanya berubah apabila ditambah basa atau ammonia. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, sangat jarang ditemukan tunggal dalam jaringan. Dikenal beberapa klas flavonoid, antara lain: antosianin, klakon, flavonol, flavon, isoflavon dan flavanon (Julianto, 2019).

Kandungan flavonoid yang tinggi pada bagian tertentu dari tanaman mengindikasikan bagian tersebut memiliki potensi yang tinggi sebagai antioksidan. Terdapat 6 jenis flavonoid yang ditemukan dalam ekstrak *Z. zerumbet*, yaitu *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, *catechin*, *luteolin*, *myricetin*. *Quercetin* tertinggi terkandung dalam ekstrak rhizome *Z. zerumbet* umur 9 bulan, yaitu sebesar 2,79 mg/gram BK. Kadar tersebut lebih tinggi dibandingkan yang terkandung dalam tanaman lain, seperti *chili* 0,799 mg/g BK), *birds eye chilli* (0,392 mg/g BK), *bell paper* (0,448 mg/g BK), *black tea* (1,107 mg/g BK), *onion* (1,49 mg/g BK) dan *ginger rhizome* (0,86 mg/g BK) (Ghasemzadeh *et al.*, 2016)

Senyawa kaempferol berhasil diidentifikasi dari daun jangkang (*Homalocladium platycladum* (F. Muell) Bailey) dan memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 200 µg/disk memberikan diameter hambat terhadap *B. subtilis* dan *S. typhimurium* berturut-turut sebesar 6,62 dan 6,27 mm (Nuria *et al.*, 2011).

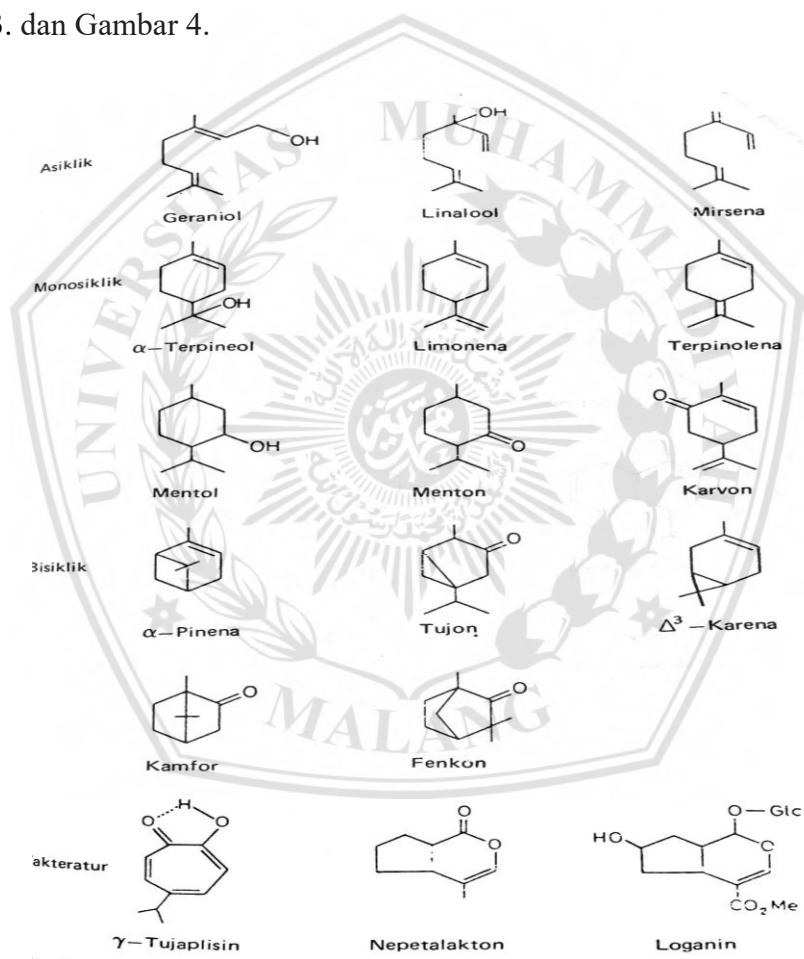
3. Fenol

Senyawa fenol merupakan aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol memiliki kecenderungan mudah larut dalam air, karena umumnya sering berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan terdapat pada vakuola sel. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan, yaitu lignin, melanin dan tanin merupakan senyawa polifenol. Beberapa kelompok fenol, yaitu fenol sederhana, fenilpropanoid, flavonoid, tannin dan kuinon (Julianto, 2019).

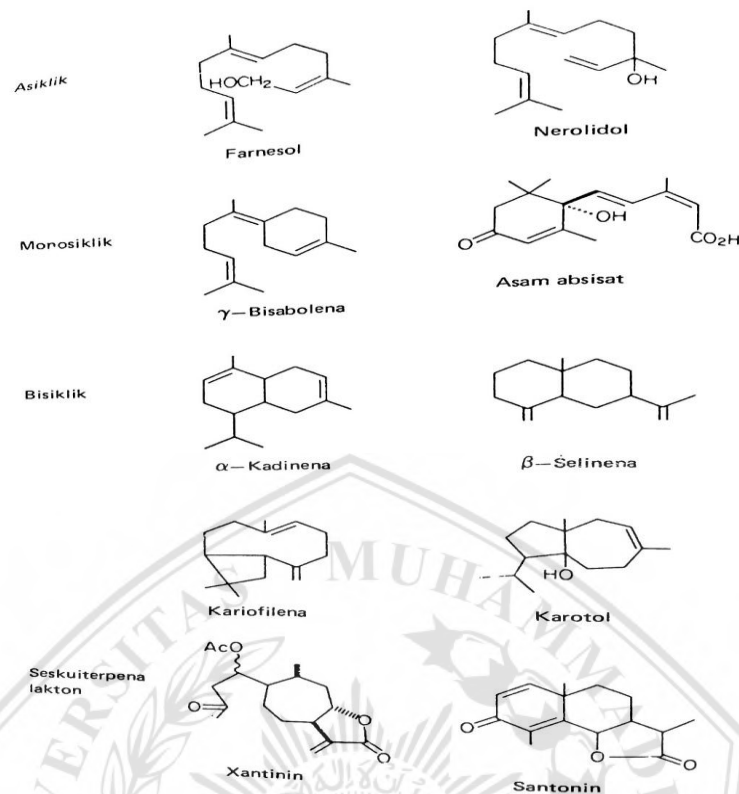
Sintesis senyawa fenolik dipengaruhi oleh tanaman, ditemukan 4 senyawa fenolik dalam ekstrak *Z. zerumbet*, yaitu *gallic acid*, *caffeic acid*, *ferulic acid* dan *cinnamic acid*. Kandungan *Total Phenolic Acid Content* (TPC) dipengaruhi oleh umur tanaman, TPC dari ekstrak daun *Z. zerumbet* terendah ditemukan pada tanaman umur 9 bulan (22,4 mg GAE/g BK) dan tertinggi pada tanaman umur 3 bulan (38,4 mg GAE/g BK). Sebaliknya, pada ekstrak rhizoma, TPC terendah ditemukan pada tanaman umur 3 bulan (19,2 mg GAE/g BK), dan tertinggi pada tanaman umur 9 bulan (44,8 mg GAE/g BK). Jika dibandingkan dengan daun dan rhizome, maka *stem* memiliki kandungan TPC yang terendah, yaitu 5,8 sampai dengan 6,7 mg GAE/g BK. (Ghasemzadeh *et al.*, 2014, Ghasemzadeh *et al.*, 2016).

4. Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa alam yang terbentuk melalui proses biosintesis, terdistribusi secara luas dalam dunia tumbuhan, memiliki struktur yang dibangun dari molekul isoprene, $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$, sebagai kerangka terpenoid. Senyawa terpenoid berkisar dari senyawa yang volatil, yaitu kelompok minyak atsiri, yang merupakan monoterpen dan seskuiterpen, senyawa yang kurang volatil, yakni diterpen dan yang non volatil, yaitu triterpenoid dan sterol serta pigmen karotenoid (Julianto, 2019). Rumus kimia monoterpen dan seskuiterpen ditampilkan sesuai Gambar 3. dan Gambar 4.



Gambar 3. Struktur kimia monoterpena (Harborne, 2006)



Gambar 4. Struktur kimia sesquiterpenoid (Harborne, 2006)

D. Herbal Sebagai Feed Additive Pada Ayam Broiler

Fitobiotik bersifat selektif, hanya menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Terdapat beberapa mekanisme kerja fitobiotik sehingga bersifat antimikrobal, yaitu (1) merusak membran sel patogen; 2) modifikasi permukaan sel-sel patogen, mempengaruhi sifat hidrofobik, sehingga menurunkan kapasitas keganasan; 3) merangsang sistem kekebalan tubuh, dengan mengaktifkan limfosit, makrofag, dan 4) melindungi mukosa usus dari kolonisasi bakteri patogen dan 5) meningkatkan pertumbuhan bakteri yang menguntungkan, seperti *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Diaz-Sanchez, *et al.*, 2015).

Minyak atsiri atau *essensial oil* dalam *Zingiberaceae* pada umumnya berasal dari terpenoid, khususnya seskuiterpenoid dan monoterpenoid (Bassole dan Juliani, 2012; Silalahi, 2019). *Z. zerumbet* lebih sering digunakan sebagai obat dibandingkan lempuyang yang lain. Rhizome *Z. zerumbet* mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, poliphenol dan *essensial oil*, yang bisa digunakan sebagai antipiretik, anti inflamasi, anti ulcer, analgesik, dan anti mikroba (Silalahi, 2019).

Yunus *et al.* (2014) menyatakan bahwa kunyit mengandung kurkumin dan minyak atsiri yang bisa menyebabkan peningkatan relaksasi intestinum tenue, sehingga menghambat peristaltik, dengan demikian ingesta lebih lama tinggal di usus halus, selanjutnya absorpsi zat-zat makanan akan lebih sempurna. Kurkumin dan turunannya dalam kunyit juga berpotensi menurunkan lemak sekaligus sebagai zat antibakteri serta zat antioksidan.

Bubuk jahe dan minyak esensial dapat menjadi pengganti antioksidan sintetis yang tepat dalam diet broiler. Jahe mengandung minyak atsiri, sedangkan minyak jahe memiliki kandungan tinggi hidrokarbon seskuiterpen, termasuk β -sesquiphellandrene (27,16%), caryophyllene (15,29%), zingiberene (13,97%), α -farnesene (10,52%) dan ar-kurkumin (6,62%) (Habibi, *et al.*, 2014). Beberapa efek farmakologis dari tanaman *Zingiber* antara lain efek antiulcer, antioksidan, aktivitas antibakteri, antijamur yang kuat dan anthelmintik (Rafiee *et al.*, 2013).

Saponin yang terkandung dalam *feed additive* berupa ekstrak *Gymnema sylvestre* terbukti menekan prevalensi penyakit hati, menurunkan kolesterol hati dan plasma, serta menurunkan obesitas akibat diet tinggi lemak. Saponin dilaporkan juga bisa berperan sebagai adjuvant yang meningkatkan respon imun tubuh melawan antigen, juga berfungsi membantu absorpsi molekul-molekul besar dan kompleks pada penggunaan secara oral (Netala *et al.*, 2015).

1. Efek Feed Additive Herbal Terhadap Kesehatan Organ Viseral

Berat organ limfoid relatif yang diukur dalam penelitian ini dapat lebih jauh mencerminkan kesehatan keseluruhan dan status kekebalan burung. Secara umum, status kekebalan yang sangat baik dapat dicapai dalam kawanan ayam pedaging, jika berat relatif dari bursa Fabricius di atas 0,2% dari total BW (Sellaoui *et al.*, 2012). Penggunaan ekstrak kulit jeruk (OPE) dan minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* (CXEO) sebagai *feed additive* dapat bertindak untuk mengurangi stress panas pada ayam broiler, karena secara nyata meningkatkan berat bursa fabricius (Akbarian *et al.*, 2013).

Penggunaan antibiotik sebagai growth promotore (AGP) dalam pakan unggas menghasilkan residu dalam jaringan. Konsentrasi tertinggi residu antibiotik yang ditemukan dalam jaringan ginjal dan hati ayam adalah tetrasiklin (8%) diikuti oleh

ampicilin (4%), streptomycine (2%) dan aminoglikosida (1%) dibandingkan dengan antibiotik lain seperti sulfonamid, neomycine dan gentamycine (Sajid, *et al.*, 2016). Penggunaan biji *Nigella Sativa* level 1% sebagai *feed additive* mampu meningkatkan berat badan dan FCR pada burung puyuh, pada level 1% dan 1,5% meningkatkan berat relatif dari bursa dan titer antibodi terhadap *Sheep Red Blood Cells* (SRBC) pada puyuh umur 42 hari (Shokrollahi dan Sharifi, 2018).

Penambahan bawang putih dalam pakan babi terbukti memberikan level ALT (*Alanin Amino Transferase*) dan bilirubin yang lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Hal ini membuktikan bahwa bawang putih meningkatkan fungsi hati, karena enzim ALT dilepaskan ketika terdapat kerusakan jaringan hati yang parah. Bilirubin adalah produk pemecahan akhir dari hemoglobin. Peningkatan ALT dan bilirubin sebagai penanda diagnosa telah terjadi kerusakan hati (Onyimonyi *et al.*, 2013).

Campuran herbal yang terdiri atas *Berberis lycium*, *Allium sativum*, *Solanum nigrum* dan *Terminalia arjuna* terbukti meningkatkan fungsi hati dan profil lipid ayam broiler, dengan menambahkan 12.5g dari setiap tanaman untuk satu liter air minum (Mannan *et al.*, 2012). Sesuai dengan yang dilaporkan Fallah (2015), pemberian bawang putih 1,5% dalam pakan secara sendiri maupun dikombinasi dengan penambahan *Aloe vera* 1,5% dalam air minum secara nyata memberikan kadar AST (*Aspartate Amino Transferase*) yang lebih rendah dibanding kontrol, sedangkan parameter lain untuk mengukur fungsi hati tidak berbeda nyata antara perlakuan dengan kontrol.

2. Efek Feed Additive Herbal Terhadap Kesehatan Intestinal

Morfologi usus merupakan indikator penting yang mencerminkan kesehatan saluran pencernaan dan respons usus terhadap zat pakan tertentu (Boguslawska-Tryk *et al.*, 2012). Secara umum diakui bahwa peningkatan tinggi vili dan penurunan kedalaman kriptae berkorelasi positif dengan fungsi pencernaan dan daya serap dalam saluran pencernaan burung, yang mencakup area serap yang diperbesar dan tingkat pergantian jaringan yang berkurang (Boguslawska-Tryk *et al.*, 2012; Munyaka *et al.*, 2012).

Secara umum, segmen ileum usus halus lebih dekat ke usus belakang, di mana pH lebih tinggi tetapi laju umpan lebih lambat, sehingga lebih besar

dipengaruhi oleh mikroflora dibandingkan dengan duodenum dan jejunum. Suplementasi FOS diduga meningkatkan fermentasi bakteri di ileum dan semakin meningkatkan daerah penyerapannya, menstimulasi sel-sel kekebalan yang terkait pada crypte epitel usus. Penambahan FOS dalam pakan juga mengurangi kerentanan terhadap kolonisasi patogen, termasuk *Salmonella spp.* atau infeksi *Escherichia coli* pada ayam broiler (Shang *et al.*, 2015)

Protein, pati dan trigliserida, merupakan molekul makro utama dalam makanan yang dihidrolisis oleh masing-masing enzim pankreas, yaitu protease (trypsin dan chymotrypsin), amilase dan lipase. Enzim-enzim dari mukosa usus halus memegang peran penting dalam proses digesti, antara lain disakaridase, aminopeptidase, fosfatase, amilase dan lipase. Enzim lipase pankreas terutama menghidrolisis monogliserida, lipase intestinal mungkin memegang peran yang lebih ketika lipase pankreas menipis persediaannya. Rempah rempah menstimulasi aktivitas lipase intestinal yang jauh lebih besar daripada lipase pankreas (Porter, 2012).

Bukti eksperimental menunjukkan adanya aksi antimikroba dari fitobiotik sebagai *feed additive*, yaitu *1,8-Cineole* (CIN) yang memiliki efek luar biasa terhadap metabolisme energi *Salmonella* pada jalur yang terkait dengan glikolisis (glukoneogenesis, metabolisme piruvat, dan siklus asam sitrat). Glikolisis atau glukoneogenesis adalah jalur metabolisme vital dan terhubung dengan banyak jalur metabolisme lainnya melalui piruvat atau metabolit lainnya. Penggunaan CIN menyebabkan gangguan aktivitas beberapa enzim *Salmonella* yang penting dalam metabolisme karbohidrat, sehingga menurunkan sintesis piruvat dan peningkatan dekomposisi piruvat menjadi Asetil Ko-A atau etanol (Sun *et al.*, 2018).

Diet yang mengandung minyak atsiri *Curcuma xanthorrhiza* (CXEO), ekstrak kulit jeruk (OPE) dan ekstrak kulit lemon (LPE) tidak memiliki efek yang signifikan terhadap kinerja ayam dan morfologi usus, tetapi dapat dinyatakan bahwa LPE pada 400 mg. kg⁻¹ pakan bisa menjadi pilihan untuk digunakan dalam pakan ayam broiler selama fase finisher untuk mencegah atau mengurangi perubahan yang disebabkan oleh stres dari mikrobiota usus dan meningkatkan fungsi imunologis (Akbarian *et al.*, 2013).

3. Efek *Feed Additive* Herbal Terhadap Profil Darah

Bawang putih dalam pakan babi terbukti nyata meningkatkan jumlah limfosit dan neutrofil, disebabkan bawang putih meningkatkan aktivasi sel pembunuh alami T-limfosit dan merangsang sistem imun (Onyimonyi *et al.*, 2013). Goodarzi *et al.* (2013) menyatakan bahwa pada penambahan bawang putih 10g/kg sampai 30g/kg dalam pakan broiler secara nyata meningkatkan titer antibodi terhadap virus ND, terbukti berat bursa dan lien menunjukkan angka tertinggi dibanding pemberian bawang putih 1% maupun kontrol.

Temuan Onu (2010), suplementasi bawang putih (0,25%) dan jahe (0,25%), secara sendiri maupun gabungan keduanya pada pakan broiler tidak mempengaruhi jumlah sel leukosit, eritrosit, PCV (*Packed Cell Volume*), MCHC (*Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration*), MCH (*Mean Corpuscular Haemoglobin*) dan MCV (*Mean Corpuscular Volume*). Semua parameter dalam level yang normal. Bawang putih maupun jahe memberikan profil darah yang bagus, tidak menunjukkan keadaan anemia pada broiler.

El- Katcha *et al.* (2016) melaporkan bahwa suplementasi *allicin* dengan level 25, 50 dan 75 mg/kg pakan broiler tidak berpengaruh terhadap jumlah leukosit, sel darah merah, Hb%, PCV%, tetapi menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol jika dibandingkan dengan kontrol. Penurunan trigliserida dan kolesterol sebagai akibat peran *allicin* dalam menghambat enzim-enzim penting untuk pembentukan lemak dan kolesterol.

Hasil penelitian Shirzadegan *et al.* (2014) menunjukkan bahwa penggunaan teh hijau bubuk selama 2 minggu tidak mempengaruhi kadar PCV, LDL, HDL dan kolesterol, dan total trigliserida pada ayam pedaging, demikian pula penelitian Shomali *et al.* (2012), aplikasi polifenol tidak memberikan perbedaan signifikan terhadap parameter darah ayam pedaging.

Penambahan bawang putih dengan level 2% atau 4% terbukti nyata menurunkan kolesterol dan LDL serta meningkatkan HDL (Canogullari *et al.*, 2010). Hasil penelitian Issa dan Omar (2012), pemberian bawang putih dalam pakan broiler dengan level tertinggi 0,4% terbukti menurunkan trigliserida, kolesterol, LDL, dan meningkatkan HDL. Penurunan level kolesterol disebabkan oleh penurunan aktivitas

enzim HMG-CoA reduktase dan 7α -hidroksilase kolesterol dan *Fatty Acid sintetase*. (Stana *et al.*, 2010; Canogullari *et al.*, 2010). Alasan penurunan level kolesterol menurut Onyimonyi *et al.* (2012) adalah adanya level tinggi bioaktif saponin yang jika bergabung dengan kolesterol membentuk kompleks yang tidak larut, lebih lanjut terjadi hambatan absorpsi kolesterol secara endogen maupun eksogen di dalam usus. Saponin juga memiliki kemampuan menghambat enzim-enzim penting dalam jalur biosintesis lemak dan kolesterol.

Goodarzi *et al.* (2013) menyatakan bahwa penambahan bawang putih 3% dalam pakan broiler secara nyata menurunkan trigliserida dan glukosa, tetapi meningkatkan HDL. Issa dan Omar (2012) menambahkan bahwa *allicin* dalam bawang putih menyebabkan penurunan kolesterol dan LDL, tetapi meningkatkan HDL, disebabkan bawang putih menghambat aktivitas enzim-enzim penting dalam biosintesis kolesterol dan lemak, termasuk enzim malat sintase, Glukosa-6-fosfat dehidrogenase dan HMG CoA.

Issa dan Omar (2012) menyatakan bahwa penurunan LDL disebabkan oleh aksi antioksidan dan antiperoksidasi dari bawang putih, karena bawang putih mengandung *S-allyl cysteine sulfoxide* atau penurunan produksi VLDL dalam hati sebagai prekursor LDL dalam darah sirkulasi. Diyakini sebagai akibat dari *allicin*. Ketika bawang putih mentah dicincang atau dihancurkan, enzim *allinase* mengaktifkan asam amino *alliin* dalam bawang putih menjadi *allicin* (*allyl 2-ropenethiosulphinate* atau *diallyl thiosulphinate*).

4. Efek Feed Additive Herbal Terhadap Performa

Hasil penelitian Onu (2010) tidak sesuai dengan yang dilaporkan Issa dan Omar (2011), bahwa suplementasi bawang putih powder 0,2% sampai 4% dalam pakan broiler tidak berpengaruh terhadap PBBH, konsumsi pakan, konversi pakan, berat karkas dan berat organ-organ visceral.

Dilaporkan oleh Chukwu dan Adeolu (2014), pemberian bawang putih powder (GP), 14g/kg pakan dalam pakan broiler secara nyata memberikan bobot akhir, PBBH, yang lebih tinggi dan FCR yang lebih rendah daripada pemberian jahe sebesar 14g/kg pakan. Persentase karkas dan konsumsi pakan yang dicapai oleh kedua herbal tersebut tidak berbeda nyata, dan nyata lebih tinggi daripada yang

dicapai oleh kelompok kontrol. Pemberian bawang putih powder dicampur pakan memberikan bobot akhir, PBBH yang lebih tinggi, FCR yang lebih rendah daripada pemberian bawang putih yang dicampur air minum.

Berbeda dengan hasil penelitian Goodarzi dan Nanekarini (2014), pemberian bawang putih lewat air minum sebesar 1% sampai 2% memberikan bobot akhir lebih tinggi daripada perlakuan penambahan virginiamycin 300g/ton pakan dan kelompok kontrol.

Pernyataan Pourali *et al.* (2010) dan Eltazi *et al.* (2014), adanya *allicin* dalam bawang putih, yang merupakan senyawa yang mengandung sulfur akan memperbaiki lingkungan flora intestinal, meningkatkan pencernaan, absorpsi, penggunaan energi, sehingga memperbaiki pertumbuhan unggas. Pemberian bawang putih 30 g/kg pakan, berefek menurunkan bobot akhir dan PBBH, disebabkan over dosis kandungan sulfur. Kandungan sulfur dalam bawang putih adalah 100 mg/kg berat kering, sehingga pada pemberian bawang putih 30 g/kg terkandung Sulfur kira-kira 300 mg/kg.

Suplementasi *allicin* level 25, 50 atau 75 mg *allicin* / Kg pakan memperbaiki konversi pakan, efisiensi protein, efisiensi pemanfaatan energi dan indeks kinerja jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sebaliknya, pada level *allicin* 100 mg/kg pakan, menyebabkan penurunan parameter tersebut (El-katcha *et al.*, 2016). Penambahan bawang putih pada pakan broiler tidak mempengaruhi berat dan panjang duodenum, jejunum maupun ileum, hal ini menunjukkan bahwa lingkungan mikrobial dalam intestinum broiler berada dalam keadaan serasi, sehingga meningkatkan polyamine dan asam lemak volatile, kedua senyawa ini berperan memfasilitasi absorpsi dalam intestinum (Daneshmand, *et al.*, 2012).

Onyimonyi *et al.* (2013) menyatakan bahwa penambahan bawang putih sampai 200 g/100 kg pakan, mampu meningkatkan PBBH dan bobot akhir. Hal ini disebabkan adanya *allicin* yang bersifat antibakterial, menjamin lingkungan usus yang mengurutkan bagi pencernaan dan pemanfaatan nutrisi. Ameh *et al.* (2013) melaporkan, komponen yang paling aktif dari bawang putih segar adalah *alliin* dan enzim yang disebut *allinase*. Ketika bawang putih dikunyah, dicincang, dimemarkan atau dipotong, campuran komponen ini membentuk *allicin*, yang bertanggung jawab untuk efek antimikroba bawang putih. Onyimonyi *et al.* (2012) juga membuktikan

penambahan bawang putih dalam pakan meningkatkan tampilan produksi pada ayam broiler. Hasil ini sangat berkaitan dengan laporan Issa dan Omar (2010), bahwa penambahan bawang putih dalam pakan terbukti meningkatkan pencernaan bahan kering (BK), protein kasar (PK) dan ekstrak eter (EE) pada broiler.

Selanjutnya El-katcha *et al.* (2016) menyatakan bahwa suplementasi *allicin* dalam pakan dengan level 25, 50 dan 75mg / kg pakan secara signifikan ($P \leq 0,05$) meningkatkan berat badan akhir dan PBBH, dengan selisih berat masing-masing perlakuan jika dibandingkan kelompok kontrol, secara berurutan sekitar (6,87%, 12,76% dan, 10,13%) dan (6,9%, 13,03% dan 10,3%). Sebaliknya, penambahan *allicin* dengan level 100mg/kg pakan menyebabkan bobot akhir dan PBBH yang lebih rendah, meskipun tidak nyata ($P \geq 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol, dengan perbedaan bobot akhir dan PBBH secara berurutan 1,13% dan 1,2%.

Pemberian imbuhan pakan antibiotika, kunyit, temulawak maupun kombinasi kunyit dengan temulawak tidak mempengaruhi konsumsi ransum, bobot akhir, persentase (karkas, lemak abdomen, bobot hati, bobot rempela). Perlakuan tersebut juga tidak berpengaruh terhadap daya cerna bahan kering, protein dan energi metabolis ayam broiler.

Fakhim *et al.* (2013) melaporkan bahwa jahe bersifat menstimulasi kelenjar ludah dan lambung, penurunan koloni bakteri patogen, pembentukan flora usus yang lebih stabil, sehingga memberikan daya cerna yang lebih baik, efek lebih lanjut meningkatkan nafsu makan, menurunkan konversi pakan dan meningkatkan efisiensi pakan pada ayam broiler.

E. Kerangka Teori Penelitian

Peningkatan prevalensi Salmonellosis yang disebabkan bakteri patogen *S. enteritidis* pada ayam broiler telah menimbulkan problem serius bagi industri perunggasan, karena kerugian ekonomis dan *foodborne disease* yang ditimbulkannya.

Pencegahan Salmonellosis dengan penggunaan AGP sebagai *feed additive* justru menimbulkan masalah lebih berat, yaitu tingginya kasus resistensi bakteri, peningkatan wabah Salmonellosis, kontaminasi bakteri *Salmonella sp* pada produk maupun lingkungan, yang menyebabkan *foodborne disease*, serta residu antibiotik

yang menyebabkan *teratogenic effect*, *carcinogenic effect* dan *mutagenic effect* pada jangka panjang.

S. enteritidis dan *S. typhimurium* yang diisolasi dari daging ayam broiler telah resisten terhadap eritromisin, penisilin dan vancomycin, dengan tingkat resistensi 100 persen (Thung *et al.*, 2016), sehingga pengendalian penyakit Salmonelosis menjadi semakin sulit, yang berlanjut meningkatnya kejadian kontaminasi *Salmonella spp* baik pada *litter*, air minum, pakan maupun udara kandang dan sekitarnya (Khatun, 2015). Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol menimbulkan residu antibiotik pada daging dan organ-organ visceral (Sajid *et al.*, 2016 dan Khatun, 2015). *S. enteritidis* berhasil diisolasi dengan persentase sebesar 33,32% dari 195 sampel hati dan isi usus ayam yang positif *Salmonella spp* (Ibrahim dan El-ghany, 2014).

Sulitnya pengendalian Salmonelosis, menyebabkan tingginya tingkat morbiditas pada ayam broiler yang menyebabkan gangguan fungsi intestinum dan hati sebagai akibat kerusakan yang terjadi pada kedua organ penting sistem pencernaan tersebut, yang berakibat lebih lanjut terjadi gangguan pencernaan dan absorpsi nutrisi, rendahnya titer antibodi, profil darah dan produktivitas serta meningkatnya mortalitas, terutama pada ayam broiler umur muda.

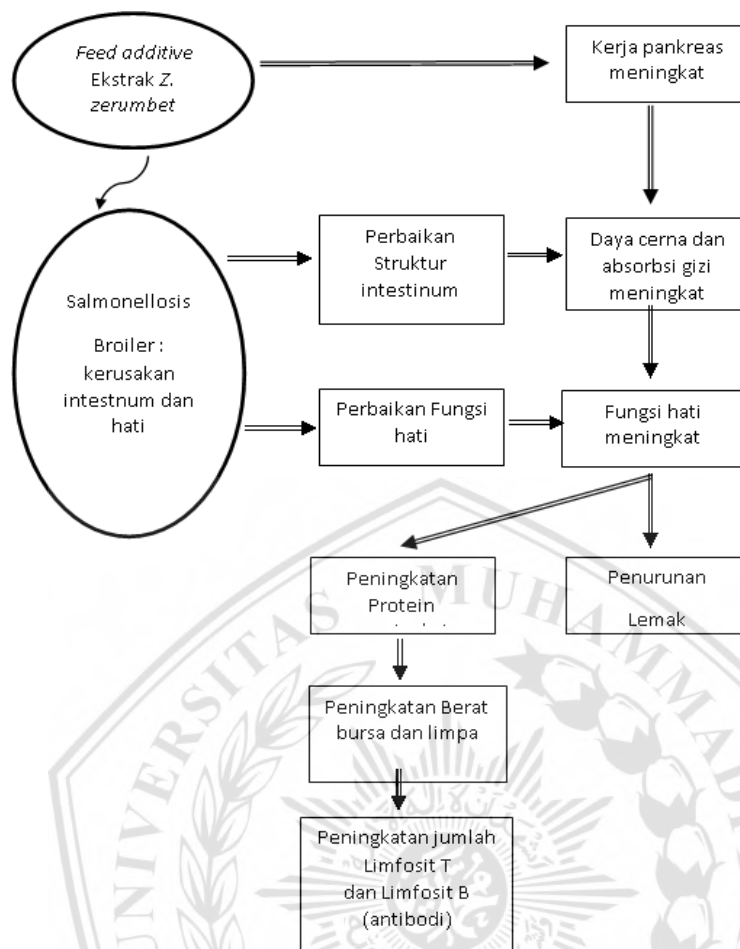
Potensi kekayaan tanaman herbal Indonesia bisa menjadi alternatif sumber fitobiotik pengganti AGP yang bisa diandalkan sebagai *green product* untuk mencegah Salmonelosis pada ayam broiler, karena fitobiotik kaya kandungan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri yang bisa diekstrak dan digunakan sebagai *feed additive*.

Fitobiotik sebagai antibakterial alami bersifat selektif, hanya menghambat bakteri patogen, sehingga tercapai keseimbangan mikroflora intestinum yang menjamin kesehatan dan perbaikan performa unggas, khususnya ayam broiler. Lebih lanjut dampak penting penggunaan fitobiotik sebagai *feed additive* adalah menurunnya prevalensi Salmonelosis, resistensi bakteri, kontaminasi bakteri pada produk unggas, sehingga menurunkan kasus *foodborne disease* pada manusia. Demikian pula dengan fitobiotik diharapkan produk unggas bebas residu antibiotik yang bersifat karsinogenik, sehingga produk aman dikonsumsi bagi konsumen.

Tujuan penambahan ekstrak *Z. zerumbet* dalam pakan ayam broiler adalah untuk mempertahankan kesehatan ayam yang terinfeksi *Salmonella spp*, karena dalam ekstrak tersebut terkandung senyawa antibakteri, yaitu alkaloid, saponin, tannin, terpenoid, flavonoid dan zerumbon yang mampu menghambat kolonisasi *Salmonella spp* di sekum. Fitobiotik tersebut juga bisa berperan sebagai antiinflamasi, antioksidan, immunomodulator dan hepatoprotektor yang sangat penting dalam pengendalian Salmonellosis.

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* diharapkan bisa menciptakan intestinum yang sehat, yang ditandai dengan tingginya rasio tinggi villi dengan kedalaman kriptas sehingga terjadi perbaikan pencernaan dan absorpsi nutrisi serta penurunan tuntutan metabolik pada sistem pencernaan broiler penderita Salmonellosis, sehingga energi bersih bisa dimaksimalkan untuk produksi.

Penambahan ekstrak lempuyang juga bisa menghambat infeksi *Salmonella spp* ke organ hati, sehingga diharapkan fungsi hati bisa terpelihara, yang ditandai dengan penurunan level Aspartat Amino Transferase (AST) dan Alanine Amino Transferase (ALT). Perbaikan fungsi hati memperbaiki total protein plasma, dan meningkatkan indeks bursa dan limfa, yang pada akhirnya meningkatkan jumlah limfosit T dan limfosit B yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh untuk melawan infeksi *Salmonella spp*. Skema kerangka teori penelitian disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema Kerangka Teori Penelitian

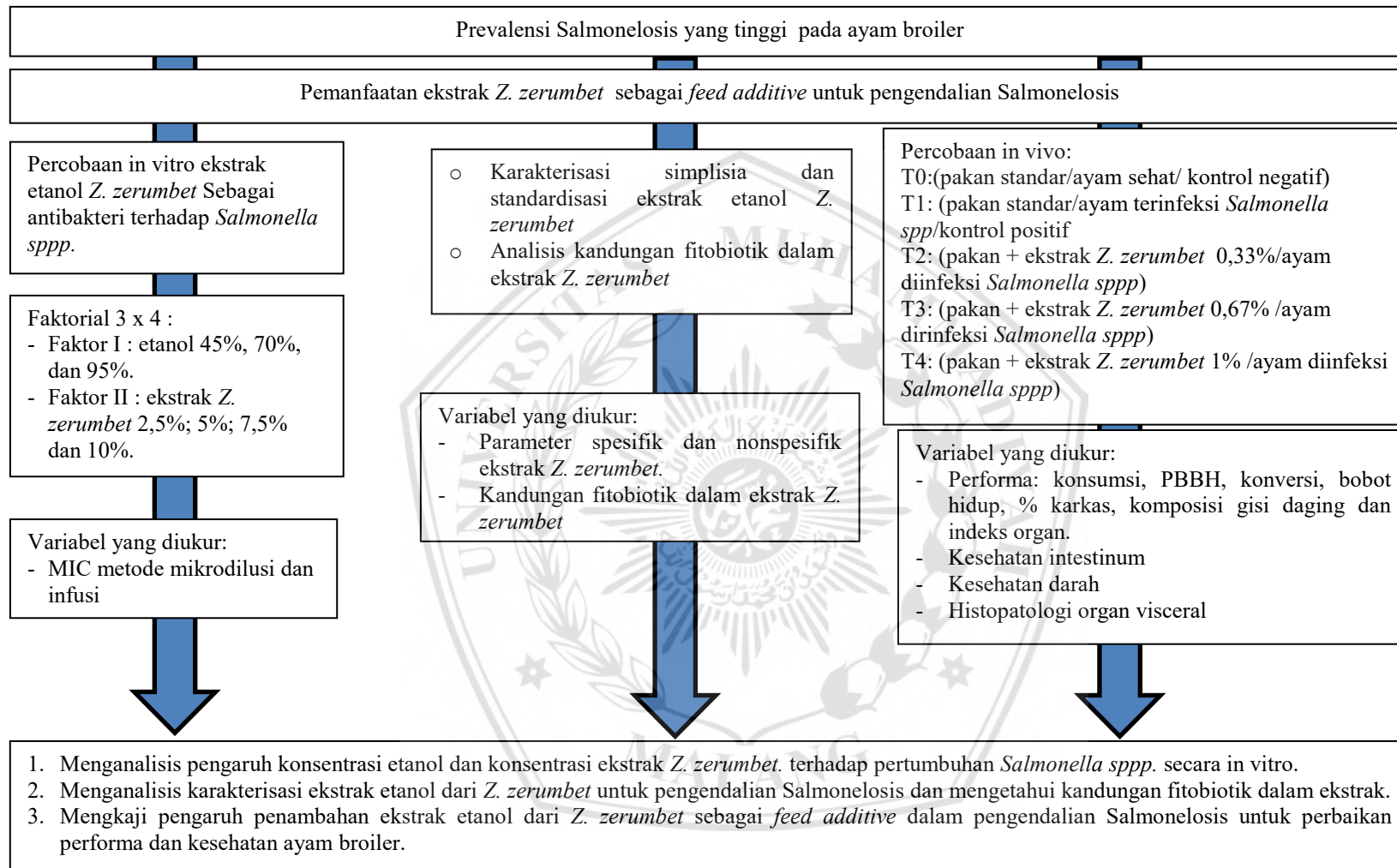
F. Kerangka Konsep Penelitian

Beberapa peneliti melaporkan bahwa ekstrak kasar dari *Z. zerumbet* bisa digunakan sebagai antibakteri (Kader *et al.*, 2011; Ghasemzadeh *et al.*, 2016; udomtanadech *et al.*, 2015) dan memiliki potensi untuk perbaikan kesehatan, karena mengandung flavonoid, antara lain *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, *catechin*, *luteolin* dan *myricetin*, yang berpotensi sebagai antioksidan (Priya *et al.*, 2014). Guna membuktikan pendapat tersebut maka dilakukan penelitian **Tahap I** berupa penelitian *in vitro* untuk mengetahui potensi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* terhadap pertumbuhan *Salmonella spp*, yaitu serovar *S.typhimurium* dan *S. enteritidis* yang bersifat zoonosis penyebab *foodborne disease*. Pada tahap ini digunakan 4 jenis ekstrak lempuyang dengan konsentrasi bertingkat (2,5%; 5%; 7,5% dan 10%) dan

konsentrasi etanol bertingkat pula (45%, 70% dan 95%), sehingga diperoleh ekstrak etanol dari lempuyang yang terbaik bisa menurunkan pertumbuhan *Salmonella spp.*

Penelitian **Tahap II** dilakukan untuk mengkaji karakterisasi ekstrak etanol dari lempuyang terbaik hasil penelitian tahap pertama yang meliputi pengujian parameter-parameter spesifik maupun non spesifik sesuai dengan standarisasi ekstrak herbal berdasarkan BPOM RI (2006). Pengujian parameter spesifik meliputi 4 parameter, yaitu **pertama**, uji identitas, yang merupakan pendeskripsian tatanama, yaitu penamaan latin, bagian yang digunakan dan penamaan Indonesia dari tumbuhan (Depkes RI., 2000). **Kedua**, pengujian organoleptik yang merupakan pendeskripsian bentuk, warna, rasa dan bau dengan pengamatan secara fisik menggunakan pancaindra. **Ketiga**, uji kandungan zat terlarut dalam pelarut air dan etanol, keempat, uji kandungan fitobiotik dalam ekstrak, dengan penapisan fitobiotik. **Keempat**, pengujian parameter yang tidak spesifik meliputi beberapa cemaran (mikroba, kapang dan logam), total kadar abu, berat jenis, kandungan air, sisa pelarut, nilai penyusutan setelah pengeringan. **Kelima**, analisis komponen senyawa kimia dalam ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* menggunakan berbagai konsentrasi etanol dengan metode GCMS.

Penelitian Tahap III dilakukan secara *in vivo*, untuk mengkaji pengaruh penambahan ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* terhadap perbaikan performa dan kesehatan ayam broiler. Kerangka konsep penelitian disajikan pada Gambar 6.

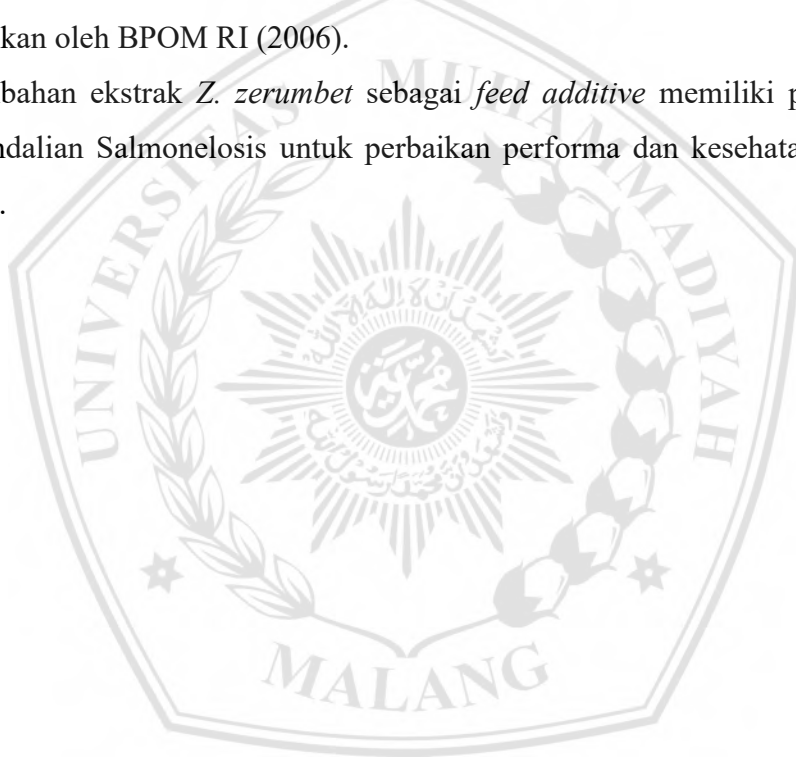


Gambar 6. Kerangka Konsep Penelitian

G. Hipotesis Penelitian

Hipotesis umum yang diajukan dari penelitian ini adalah senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* berpotensi sebagai *feed additive* alami untuk pengendalian Salmonellosis dan perbaikan kesehatan ayam broiler. Hipotesis khusus yang diuji pada penelitian ini meliputi:

1. Konsentrasi etanol sebagai pelarut dan konsentrasi ekstrak yang berbeda dari *Z. zerumbet* dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella spp* secara in vitro.
2. Karakterisasi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* yang terbaik menghambat pertumbuhan *Salmonella spp* sesuai dengan standarisasi ekstrak herbal yang ditetapkan oleh BPOM RI (2006).
3. Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* memiliki potensi dalam pengendalian Salmonellosis untuk perbaikan performa dan kesehatan pada ayam broiler.



BAB III METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian Tahap I

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengadaan sampel rimpang *Z. zerumbet* dan proses ekstraksinya dilakukan di UPT Balai Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Uji sensitifitas *Salmonella spp* terhadap ekstrak *Z. zerumbet* dilakukan di Laboratorium Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Pengujian dilakukan Tanggal 1 Oktober sampai 30 Desember 2017.

2. Tujuan Penelitian

Penelitian Tahap I dilaksanakan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* dalam menghambat bakteri patogen *Salmonella spp* pada ayam broiler. Pada tahapan ini dilakukan uji sensitifitas *Salmonella spp* serovar *S. typhimurium* dan *S. enteritidis* terhadap ekstrak etanol dari *Z. zerumbet*. Terdapat 3 percobaan yang dilakukan, yaitu uji *Minimal Inhibition Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericide Concentration* (MBC) dengan metode pengenceran, difusi dan kejernihan secara kuantitatif dengan spektrofotometer. Hasil penelitian Tahap I digunakan sebagai dasar pada penelitian Tahap II.

3. Percobaan: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol *Z. zerumbet* terhadap *Salmonella spp*.

a. Materi Penelitian

1) Isolat Mikroba

Isolat murni yang digunakan adalah *Salmonella spp*, terdiri atas serovar *S. enteritidis* ATCC 31194 dan *S typhimurium* ATCC 23564 yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

2) Alat dan Bahan

Alat yang diperlukan terdiri atas toples tertutup, corong gelas, timbangan analitik, gelas ukur, botol, *waterbath*, erlemeyer, *rotary evaporator*, *beaker glass*, *shaker digital* dan alkohol meter. Bahan yang diperlukan antara lain rimpang *Z. zerumbet*, bahan lain yang digunakan yaitu etanol, media MHA, MHB dan aquades steril.

b. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode percobaan *in vitro*, RAL pola faktorial, faktor I adalah konsentrasi etanol, yaitu 45%, 70% dan 95%, sedangkan faktor II berupa konsentrasi ekstrak *Z. zerumbet*, yang terdiri atas 2,5%; 5%; 7,5% dan 10%. Data dianalisis dengan analisis varians (Anava), dan jika berpengaruh nyata dilanjutkan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT).

c. Prosedur Penelitian

Prosedur uji sensitifitas *Salmonella spp* terhadap ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* sebagai berikut:

1) Pembuatan Ekstrak Etanol *Z. zerumbet*

Proses pembuatan ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* dilakukan dengan metode maserasi, dengan prosedur kerja sebagai berikut:

- a) Ditimbang rimpang lempuyang gajah sebanyak 100 gram (pembuatan ekstrak etanol 45% dan 70%), 150 gram (pembuatan ekstrak etanol 95%)
 - b) Dilakukan pembasahan dengan pelarut etanol sebanyak 100 ml.
 - c) Serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut dimasukkan ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol sampai terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat atau lebih, yaitu 1 liter). Toples ditutup dengan rapat selama 24 jam, dan dishaker dengan shaker digital kecepatan 50 rpm.
 - d) Ekstrak cair disaring dengan penyaring kain, dan ekstrak ditampung dalam erlemeyer.
 - e) Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, diperlukan waktu 1 jam untuk evaporasi.
 - f) Ekstrak yang dihasilkan dievaporasi/diuapkan di atas water bath selama 2 jam.
- ### 2) Pemeriksaan KHM/MIC (Konsentrasi Hambat Minimum) metode mikrodilusi (Dillution Tube) dan difusi
- a) Cara Mikrodilusi.

Membuat seri konsentrasi awal dari ekstrak etanol *Z. zerumbet* dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,75%, 3,37%, 1,65%, 0,32%, 0,15%, 0,52%, kontrol bahan dan kontrol mikroba, dengan volume 100 μ L. Dibuat suspensi bakteri dari masing-masing dengan kepadatan 10^6 pada media cair, dengan cara komparasi memakai standart larutan Mc Farland 10^8 , diencerkan kemudian dinokulasikan pada

masing-masing konsentrasi awal bahan uji dengan volume 100 μ L. Sehingga diperoleh volume akhir 200 μ L dan konsentrasi perlakuan 50%, 25%, 12,5%, 6,75%, 3,37%, 1,65%, 0,32%, 0,15%, 0,52%, 0,26%, kontrol bahan dan kontrol mikroba. Kemudian diinkubasi 1 x 24 jam suhu 37°C, dimixer sehingga homogen, dibaca perubahan kekeruhan atau endapan bakteri dengan Mikroplate reader dan ditentukan KHM dan KBM nya, menggunakan kurva standart yg menghubungkan antara angka pembacaan dan jumlah mikroba.

b) Cara Difusi

Disiapkan suspensi mikroba yang akan di tes pada media cair dengan kekeruhan setara dengan 0,5 mf. Dengan menggunakan lidi kapas steril ditanam secara goresan merata di permukaan media MHA dan dibiarkan beberapa saat. Meletakkan Blank Disk dengan pinset steril pada media MHA yang telah ditanami mikroba. Meneteskan bahan ekstrak uji pada Blank Disk sejumlah 10 μ L, dilanjutkan inkubasi media pada suhu optimal, selanjutnya mengukur diameter zona yang tidak ditumbuhi koloni mikroba dalam satuan millimeter.

B. Desain Penelitian Tahap II

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pada Tahap II dilakukan pengujian karakterisasi simplisia dan standarisasi ekstrak etanol herba *Z. zerumbet* L. Smith. Pengujian parameter spesifik dan non spesifik dilakukan di beberapa laboratorium, antara lain : Laboratorium Nurisi, Peternakan, Fakultas Pertanian-Peternakan UMM, Laboratorium Terpadu Kedokteran UMM, Laboratorium Fitobiotik UPT Materia Medica, Depkes Jawa Timur, Laboratorium Perum Jasa Tirta II, Malang, Jawa Timur. Penelitian dilakukan Tanggal 20 November 2017 sampai Tanggal 25 Januari 2018.

2. Tujuan Penelitian

Penelitian Tahap II dilakukan untuk mengetahui karakterisasi simplisia dan standarisasi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* L. Smith. Pada tahap ini dilakukan pengujian terhadap parameter-parameter spesifik maupun tidak spesifik, antara lain identitas/ciri-ciri, organoleptik (rasa, bau, warna), kandungan zat terlarut dalam air dan etanol, dan kandungan fitobiotik dengan penapisan fitobiotik. Pengujian juga

dilakukan untuk mengetahui kandungan total abu, abu yang tidak larut dalam asam, BJ, kandungan air, pelarut yang tersisa, mikroba, aflatoksin dan logam.

3. Percobaan 1: Pengujian Identitas Ekstrak *Z. zerumbet* L. Smith, Organoleptik dan Kandungan Zat Terlarut dalam Solvent

a. Materi Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: *logbook* penelitian, alat tulis, literatur penunjang, panca indera, cawan, labu bersumbat, oven, mikroskop. Bahan yang dipakai adalah tanaman, simplisia dan ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* (L.) Smith, kloroform, etanol 96%.

b. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif berdasarkan hasil yang ditunjukkan secara kualitatif maupun kuantitatif.

c. Prosedur Penelitian

Pengujian terhadap identitas simplisia dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik, untuk pengujian makroskopik dilakukan dengan pendeskripsian secara umum, termasuk lingkungan yang cocok untuk hidup tanaman, taksonomi, nama latin dan Indonesia. Pendeskripsian juga dilakukan pada bagian-bagian tanaman, antara lain: batang, daun, bunga, buah dan biji.

Pengujian secara mikroskopis dilakukan dengan pengamatan mikroskopis terhadap serbuk herba, mencakup fragmen-fragmen antara lain: epidermis, jaringan parenkim, stomata dan trachea.

4. Percobaan 2 : Pengujian Kandungan Kimia Ekstrak dengan Penapisan Fitobiotik

a. Materi Penelitian

Alat dan Bahan

Pada percobaan ini alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, penangas air, penyaring, kertas saring, cawan penguap, krus silikat, tanur, piknometer, destilator, labu ukur, cawan petri

Bahan yang diperlukan, yaitu etanol 70%, HCl 2 N, reagen Mayer, serbuk Magnesium (Mg), HCl pekat, aquabides, chloroform, H₂SO₄ pekat, FeCl₃, petroleum eter, lapisan kapas, H₂SO₄ encer, toluene, aquades.

b. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif berdasarkan hasil yang ditunjukkan secara kualitatif maupun kuantitatif.

c. Prosedur Penelitian

Pengujian penapisan fitobiotik terhadap ekstrak etanol *Z. zerumbet* L. Smith, terdiri atas beberapa uji identifikasi, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid (Nugroho, 2017).

1) Identifikasi Alkaloid

Alkaloid diuji dengan menggunakan tiga jenis reagen, yaitu Meyer, Dragendrouf dan Bouchardat, ketiganya diproduksi oleh Merck, Jerman. Prosedur pengujian adalah sebagai berikut, sebanyak dua mililiter ekstrak dicampur dengan aquadest sebanyak delapan milliliter, setelah dipanaskan sepuluh menit, kemudian dilakukan penyaringan, selanjutnya dilakukan test dengan menggunakan reagen Meyer dan Dragendrof, Bouchardat masing-masing sebanyak enam tetes. Hasil positif alkaloid apabila terdapat endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan jingga pada pereaksi Dragendrof, dan endapan coklat pada pereaksi Bouchardat.

2) Pemeriksaan Flavonoid

2 ml sampel ekstrak dan 8 ml aquadest dicampur, dilakukan pemanasan kira-kira 10 menit, penyaringan filtrat, beberapa tetes HCl ditambahkan, selanjutnya penambahan bubuk magnesium. Positif alkaloid apabila terbentuk warna merah muda sampai tua.

3) Pengujian Saponin

Mencampur 2 mililiter sampel dan 8 mililiter aquadest, pemanasan 10 mnt, penyaringan larutan hasil ditambah dua ml air panas, dilakukan pengocokan secara kuat. Adanya saponin ditandai dengan busa menetap, tidak lebih dari sepuluh menit. Buih akan hilang jika ditambahkan larutan HCl kira-kira satu tetes.

4) Pengujian Terpenoid

Mencampur dua ml ekstrak dengan delapan ml aquadest, kira-kira dipanaskan sepuluh menit, larutan yang dihasilkan disaring, selanjutnya ditetesi reagen Bouchardat sebanyak tiga tetes. Hasil positif adanya terpenoid jenis steroid, jika terbentuk warna hijau kebiruan, dan positif terpenoid jenis triterpenoid jika timbul warna orange atau jingga kecoklatan.

5) Identifikasi Tanin

Sebanyak 2 ml sampel ekstrak ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit, filtrate disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. ditambahkan 3 tetes FeCl_3 , hasil positif tannin apabila terbentuk warna coklat kehitaman, biru kehitaman, hijau kehitaman.

5. Percobaan 3 : Pengujian Komponen Kimia Ekstrak etanol *Z. zerumbet* dengan metode *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS)

a. Materi Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan berupa Perkin Elmer GC-MS (Perkin Elmer Clarus 680 GC-Clarus SQ 8T MS) yang memiliki kolom kapiler Elite-5 MS $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 25 \text{ m}$ (5% difenil, 95% dimetilpolisiloksan).

b. Tempat dan Waktu Penelitian

Analisis GC-MS dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang.

c. Cakupan penelitian

Tahapan penelitian ini bertujuan untuk menganalisis komponen kimia ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* dengan metode GC-MS.

d. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif berdasarkan hasil yang ditunjukkan secara kualitatif.

e. Prosedur Penelitian

GC-MS dideteksi menggunakan sistem ionisasi elektron dengan energi ionisasi 70 eV. Pembawa gas dalam bentuk helium ultrapure digunakan dengan laju aliran konstan 1 mL / menit. Sumber ion, massa jalur transfer, dan suhu injektor masing-masing diatur pada 230°C , 250°C , dan 290°C . Suhu oven diatur antara 50 hingga 150°C pada $3^\circ \text{C} / \text{menit}$ dan dalam kondisi isothermal selama 10 menit dan kemudian dinaikkan hingga 250°C pada $10^\circ \text{C} / \text{menit}$. Sampel encer (1/100, v / v dalam etanol) dari 1 μL disuntikkan secara manual dalam mode split 120. Pemindaian spektral massa berada dalam kisaran 45-450 m / z dengan keterlambatan pelarut 2 menit. Komponen ekstrak diidentifikasi berdasarkan perbandingan waktu

retensi GC relatif dan mass Spektrum dengan komponen dari NIST MS Search Library Software versi 2.0. Cat 10 ° C / mnt (Valle *et al.*, 2016)

6. Percobaan 4 : Pengujian Parameter Non Spesifik Ekstrak *Z. zerumbet*

a. Materi Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang diperlukan dalam percobaan ini antara lain: krus silikat, tanur, cawan, kertas saring, piknometer, destilator, labu alas bulat, penangas air, vortex, cawan petri, pipet tetes, incubator. Bahan yang digunakan antara lain: ekstrak *Z. zerumbet* L. Smith, H₂SO₄ encer, toluene, aquades, *Nutrient Agar*, *Potato Dextrose Agar*.

b. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif berdasarkan hasil yang ditunjukkan secara kualitatif maupun kuantitatif.

c. Prosedur Penelitian

Pengujian parameter non spesifik terhadap ekstrak etanol *Z. zerumbet* SM. terdiri atas beberapa pengujian, antara lain: kandungan abu tak larut dalam asam, total abu, BJ, penetapan kandungan air, kadar pelarut yang masih tersisa, mikroba, Logam, dan aflatoksin/. Prosedur pengujian senyawa kimia tersebut sebagai berikut:

1) Kadar Abu Total

Menimbang satu gram ekstrak sebagai (W1), krus silikat yang dipijar sebagai (W0). Memasukkan ekstrak ke dalam krus silikat, dipijar dengan tanur, suhu ditingkatkan secara pelan sampai 600 ± 25°C, ditunggu hingga arang habis dan ditimbang sebagi (W2).

$$\% \text{ kadar abu total} = \frac{W2-W0}{W1} \times 100\%$$

W0 = gram cawan kosong

W1 = gram berat ekstrak awal

W2 = gram cawan dan ekstrak setelah pengabuan

2) Penentuan Kandungan Abu tidak Larut Asam

Pendidihan abu (hasil pengujian total kadar abu) menggunakan asam sulfat encer (25 ml) kira-kira 5 menit, komponen yang tidak larut asam dikoleksi, dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring bebas abu, pembilasan residu

memakai air panas. Memasukkan abu dan sekaligus kertas saring ke dalam krus silikat. Selanjutnya, dengan tanur ekstrak dipijar secara pelan-pelan (meningkatkan suhu perlahan-lahan sampai $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$, sampai habis arangnya, selanjutnya dilakukan penimbangan (W2).

$$\% \text{ kadar abu tidak larut asam} = \frac{(C \times 0,0076) - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan : C : gram kertas saring

W0 : gram cawan kosong

W1 : gram ekstrak awal

W2 : gram cawan dan abu tak larut asam

3) Masa Jenis

Menimbang piknometer, dilakukan kalibrasi sebagai berat piknometer kosong (W0), penimbangan piknometer setelah diisi air dengan pendidihan suhu 25°C , sebagai berat piknometer dan air (W1). Ekstrak cair dengan suhu 20°C , dimasukkan dalam piknometer dan dipanasi hingga suhu 25°C , selanjutnya ditimbang sebagai berat piknometer dan ekstrak (W2).

$$d = \frac{W2 - W0}{W1 - W0}$$

Keterangan : d : BJ

W0 : Berat piknometer kosong (gram)

W1 : Berat piknometer + air (gram)

W2 : Berat piknometer + ekstrak (gram)

4) Penetapan Kadar Air

Kadar air ditetapkan menggunakan metode destilasi toluene, dengan penjuhan toluene menggunakan air, toluene jenuh dikocok, kemudian didiamkan, dilakukan pembuang lapisan air setelah terjadi pemisahan antara toluene dengan air. Ekstrak sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam labu (alas bulat), ke dalamnya ditambahkan toluena jenuh, kemudian dipanaskan kira-kira 100 menit, saat awal mendidih penyulingan mulai dilakukan, awalnya 2 tetes per detik, selanjutnya 4 tetes. Ditunggu toluene mendidih sempurna, dilanjutkan pemanasan sekitar 5 menit, kemudian didinginkan sampai mencapai suhu kamar. Setelah terjadi pemisahan

sempurna antara toluene dan air, selanjutnya dilakukan pembacaan volume air dan kadar air bisa dihitung dalam persen berdasarkan perbandingan dengan berat ekstrak semula. Dilakukan 3 kali percobaan (Saifudin *et al.*, 2011).

5) Sisa Pelarut

Menimbang 2 gram ekstrak alkohol 30%, dilarutkan menggunakan air sampai volume 25 ml, selanjutnya masukkan ke labu destilasi dengan suhu 78,5° C, lakukan destilasi kira-kira 2 jam atau sampai tidak terjadi penetasan larutan. Destilat ditambahkan air hingga volume 25 ml, dilakukan penetapan berat jenis cairan pada suhu 25°C. Dilakukan perhitungan persentase dalam volume dari etanol dalam cairan, diperlukan Table BJ dan kadar etanol yang tercantum dalam Farmakope Indonesia edisi IV (Saifudin *et al.*, 2011).

6) Cemarkan Mikroba

Labu ukur 10 ml diisi ekstrak 1 gram, ditambahkan aquades sampai 10 ml, pengenceran 10^{-1} ini dikocok hingga larut, selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} (Saifudin *et al.*, 2011).

a) Total Plate Count (TPC)

Sebanyak 1 ml ekstrak masing-masing pengenceran diletakkan dalam cawan, ditambahkan 5 ml NA yang dibuat cair pada suhu 45 °C, menggoyang sehingga sampel rata, dan dibiarkan sampai membeku. Masukkan cawan petri ke incubator suhu 35°C selama 24 jam, dengan posisi dibalik. Menghitung TPC, yaitu perkalian antara jumlah koloni dengan faktor pengenceran dalam satuan koloni/gram sampel (Saifudin *et al.*, 2011).

b) Kapang dan Khamir

Sebanyak 5 ml media PDA, sesudah dipanaskan dengan suhu 45 °C dan berbentuk cair segera dituang ke dalam cawan petri, dibiarkan beku. Dari tiap pengenceran diambil 0,5 ml dipepet ke dalam cawan petri. Cawan petri digoyang secara pelan dan hati-hati sampai sampel merata pada media, selanjutnya diinkubasi selama tujuh hari. Melakukan pencatatan jumlah kapang per gram sampel (Saifudin *et al.*, 2011).

C. Desain Penelitian Tahap III :

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan *in vivo* pada ayam broiler, yang didasarkan atas hasil penelitian terbaik Tahap I dan Tahap II. Penelitian Tahap III terdiri atas 2 percobaan, percobaan dilakukan di kandang percobaan, *clouse house*, *Experimental Farm*, Peternakan UMM. Pengujian laboratorium dilakukan di Laboratorium Nutrisi, Peternakan, FPP dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UMM. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2018.

2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini untuk melaksanakan tujuan ketiga dan menjawab hipotesis ketiga, yaitu untuk mendapatkan potensi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* untuk pengendalian Salmonelosis dan perbaikan kesehatan ayam broiler.

3. Percobaan 1 : Pengujian Dosis Infeksi *Salmonella enteritidis*

Melakukan percobaan *in vivo* berupa infeksi secara oral dengan *Salmonella spp* hasil terbaik Tahap I, yaitu *S. enteritidis* dengan dosis bertingkat, yaitu 10^4 , 10^6 , 10^8 , 10^{10} dan 10^{12} pada ayam broiler umur 10 hari dan diamati gejala klinis ayam selama 1 minggu pasca infeksi, gejala klinis yang diharapkan adalah yang menunjukkan gejala diare sedang.

4. Percobaan 2 : Uji potensi ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* untuk pengendalian Salmonelosis

a. Materi Penelitian

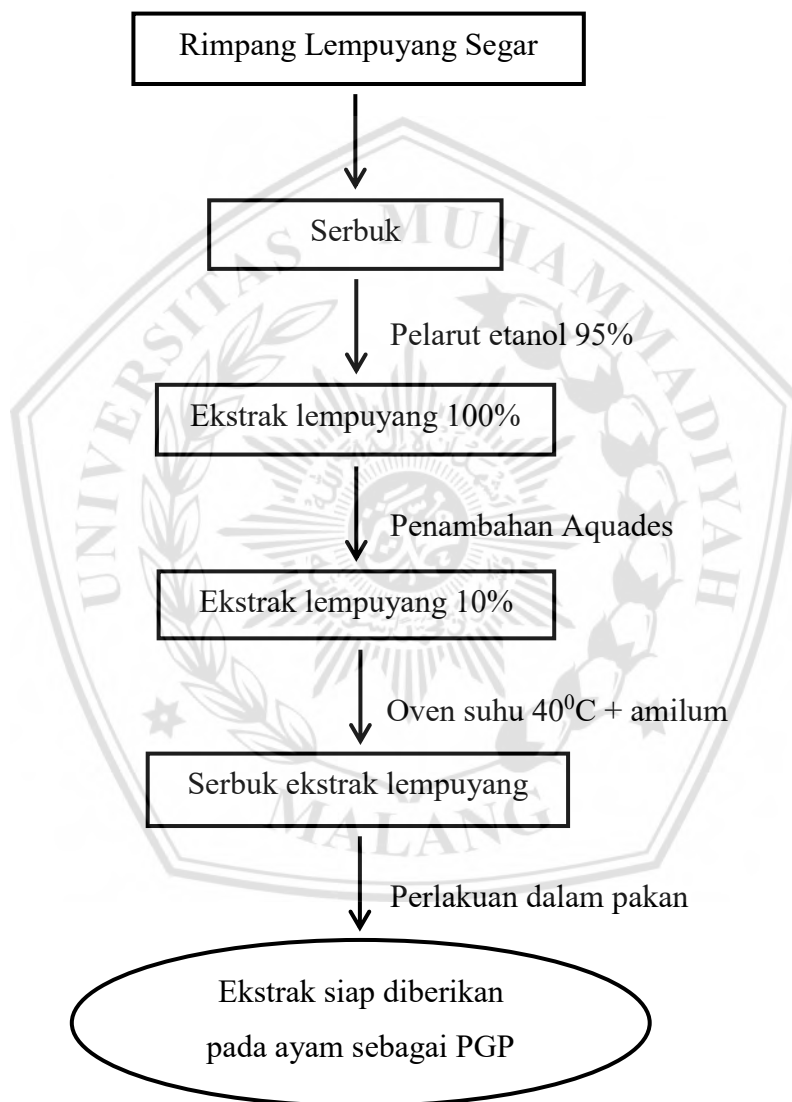
Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan di kandang pemeliharaan broiler antara lain pakan standar, yang disusun dengan formulasi sesuai kebutuhan. Bahan lain yang diperlukan adalah bekatul, jagung kuning, tepung ikan, konsentrat, minyak kelapa, bungkil kedelai, kapur, garam, ekstrak *Z. zerumbet* bentuk serbuk, vaksin dan air minum, sekam, koran, kardus. Alat yang diperlukan yaitu lampu, kabel, plastik, tempat pakan dan minum, timbangan, thermohygrometer, kalkulator dan alat tulis.

Materi penelitian terdiri dari adalah *Day Old Chick* (DOC) broiler berumur 1 hari, sebanyak 125 ekor, bobot badan awal berkisar antara 34 gram sampai 47 gram, dengan rata-rata $39,536 \text{ gram} \pm 2,481$ dan masa pemeliharaan selama 35 hari. Vaksinasi ND dilakukan pada ayam umur 4, 17 dan 24 hari. Infeksi buatan menggunakan bakteri *Salmonella spp.* secara oral pada hari ke 10 dengan optical

density (OD) 1×10^{10} CFU, sedangkan serbuk ekstrak *Z. zerumbet* diberikan saat ayam umur 7 hari sampai 35 hari

Ekstrak *Z. zerumbet* bentuk serbuk diperoleh dari ekstrak yang tertinggi daya hambatnya terhadap *S. enteritidis*, dihasilkan dari penelitian Tahap I, yaitu ekstrak dengan konsentrasi 10% yang diekstrak dengan etanol 95%, sebagai pelarutnya. Proses pembuatan ekstrak *Z. zerumbet* serbuk ditampilkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Proses pembuatan ekstrak *Z. zerumbet* bentuk serbuk.

Pakan ayam dibuat untuk dua fase hidup ayam, yaitu periode *starter* dan *finisher*, dengan formulasi pakan sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Formulasi Ransum

Bahan Pakan	Formulasi Ransum	
	Starter	Finisher
	Jumlah (%)	Jumlah (%)
Bekatul	0,6	0,4
Jagung kuning	59,22	65,11
Tepung ikan	2,8	2,31
Tepung tulang	1	2
Tepung daging	4,42	-
Bungkil kedelai	29	27
Minyak kelapa	1,22	1,12
Kapur	0,35	0,5
Garam	0,5	0,5
Lysin	0,7	0,9
Metionin	0,19	0,16
Total (%)	100,00	100,00
Komposisi Zat-zat Makanan		
ME (kkal/kg)	3000,00	3000,00
Protein (%)	23	20
Lemak (%)	4,00	4,00
Serat kasar (%)	3,55	3,47
Ca (%)	0,89	0,76
P (%)	0,42	0,36
Na (%)	0,15	0,15
ASAM AMINO:		
Arginin (%)	0,88	0,98
Histidin (%)	0,35	0,38
Isoleusin (%)	0,77	0,82
Leusin (%)	0,98	1,02
Lisin (%)	0,99	1,00
Metionin (%)	0,46	0,40
Fenilalanin (%)	0,76	0,82
Treonin (%)	0,66	0,69
Triptofan (%)	0,31	0,26
Valin (%)	1,23	1,09

b. Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode percobaan, Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri 5 perlakuan, yaitu : T0 (ayam diberi pakan basal), T1 (ayam diberi pakan basal + infeksi *Salmonella spp.*), T2 (ayam diberi pakan basal + infeksi *Salmonella spp.* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33% total pakan), T3 (ayam diberi pakan basal + infeksi *Salmonella spp.* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67% total pakan), T4 (ayam

diberi pakan basal + infeksi *Salmonella spp.* + ekstrak *Z. zerumbet* 1% total pakan). Setiap perlakuan diulang 5 kali dan setiap ulangan terdiri dari 5 ekor ayam.

c. Variabel, Cara Pengukuran dan Prosedur

Secara garis besar terdapat 4 variabel yang diukur pada penelitian Tahap III, yaitu variabel kesehatan yang diukur yaitu kesehatan intestinum, kesehatan darah, dan histopatologi organ visceral. Variabel performa yang diukur yaitu pencernaan, berat organ visceral dan indeks organ serta tampilan produksi.

Variabel Kesehatan

1) Variabel Kesehatan Intestinum

Variabel kesehatan intestinum yang diukur meliputi jumlah koloni *Salmonella spp.*, rasio antara tinggi villi dengan kedalaman kriptas dan ketebalan epitelium.

a) Penghitungan Koloni *Salmonella enteritidis*

Koloni *S. enteritidis* pada feses disampling pada hari ke 10, sesaat sebelum diinfeksi dan pada hari ke 28. Prosedur pengukuran jumlah koloni menggunakan metode hitungan cawan petri, sebagai berikut:

Sebanyak 1 ml suspensi bakteri diambil, diencerkan dengan menambah 9 ml PBS (larutan fisiologis) untuk membuat pengenceran 10^{-1} , dari pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml dan ditambahkan PBS untuk membuat pengenceran 10^{-2} , dan seterusnya, membuat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} sampai dengan 10^{-10} . Bakteri selanjutnya dipindahkan dengan mikropipet ukuran 100 μ l, dikocok menggunakan vortex supaya homogen. Sebanyak cawan petri kosong disiapkan dan diberi kode, disesuaikan tingkat pengenceran yang akan dituang. Media PDA dituang pada tiap cawan petri, selanjutnya cawan ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh, perhitungan total dengan mengalikan faktor pengencerannya. Data jumlah koloni *S. enteritidis* dianalisis menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*), dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji Wilayah Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test /DMRT*).

- b) Pengukuran (rasio tinggi villi dengan kedalaman kriptas dan ketebalan epitelium) dan Pengamatan Histopatologi Organ Viseral

Prosedur diawali dengan pemilihan jaringan intestinum yang terbaik. Setiap bagian intestinum, yaitu duodenum, jejunum dan ileum, diambil 3 segmen (proksimal, middle dan distal) masing-masing sepanjang 1 cm. Memasukkan jaringan ke dalam formalin 10% untuk fiksasi. Memproses jaringan menggunakan *tex processor* kemudian mengeblok jaringan dengan paraffin, selanjutnya jaringan dipotong menggunakan *microtome* dengan ketebalan 5 μ m. Melakukan deparafinisasi dengan meletakkan jaringan dalam oven selama 1-2 jam dengan suhu 60°C, kemudian dimasukkan ke dalam xylol, masing-masing 15 menit. Mencelupkan ke dalam alkohol 96% diperkirakan tiga menit, kemudian dibilas menggunakan air mengalir durasi sepuluh menit. Dilakukan pengecatan dengan Hematoxylin-Eosin (Puspitasari, 2015).

Pembacaan slide preparat dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 x. Pengukuran panjang villi dan kedalaman kriptas dilakukan dengan software Scan Dot Slide Olyvia dengan satuan ukur μ m (Puspitasari, 2015). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kuantitatif.

- c) Penentuan Aktivitas Enzim dalam Intestinum Tenue

Penentuan aktivitas amilase, dengan cara 1 mL filtrate enzim hasil ekstraksi ditambahkan dengan 1 mL larutan substrat (*soluble starch*), kemudian diinkubasi selama 3 menit pada suhu optimum 30 °C. Reaksi enzim dilanjutkan dengan penambahan 2 mL DNS (3,5 dinitro salicylic acid). Ditambahkan 20 mL aquades dan serapan diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. **Aktivitas enzim α -amilase = $C \times 1/T \times 1 \text{ unit/1 mikromol}$**

Keterangan: C = Konsentrasi maltosa per mL ekstrak enzim (mikromol), T = Waktu inkubasi (menit), 1 unit enzim α -amilase = besarnya aktivitas enzim yang dibutuhkan untuk membebaskan 1 mikromol maltosa per menit per mL enzim (Suarni dan Patong, 2007).

Penentuan aktivitas protease, diukur dengan menggunakan modifikasi metode Walter (1984) (Tabel 3.2). Sebanyak 100 ml ekstrak kasar protease ditambahkan 0,5 ml kasein 1 % (w/v) dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37

°C. Reaksi antara ekstrak kasar protease dan kasein dihentikan dengan penambahan asam trikloroasetat (TCA) 10 % dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 10 °C. Larutan reaksi selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 8.000 g selama 10 menit untuk kemudian dikoleksi supernatant. Kemudian larutan ditambahkan Na₂CO₃ 0.5 M dan pereaksi Folling Ciocalteau (1:2) sebelum dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 578 nm. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang membebaskan 1 µmol tirosin per menit pada suhu dan pH optimum (Suhartono dan Artika, 2017)

Tabel 3. Pengukuran Aktivitas Enzim Protease

Pereaksi	Blanko (µL)	Standar (µL)	Sampel (µL)
Bufer Tris-HCl 0.2 M pH 8	500	500	500
Casein 1 %	500	500	500
Enzim	-	-	100
Aquades steril	100	-	-
Tirosin Standar (5 mM)	-	100	-
Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 10 Menit			
Asam Trichloroasetat 10%	1000	1000	1000
Aquades steril	-	-	100
Enzim	100	100	-
Inkubasi pada suhu 37 °C selama 10 Menit Sentrifuge 10.000 rpm selama 5 menit			
Supernatan	750	750	750
Na ₂ CO ₃	2500	2500	2500
Follin Ciocalteu (1 : 2)	500	500	500
Didiamkan selama 15 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm			

Aktivitas protease dihitung dengan rumus : $UA = \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{blanko}}}{A_{\text{standart}} - A_{\text{blanko}}} \times P \times \frac{1}{T}$

Note :

UA: jumlah enzim yang dapat menghasilkan satu mikromol produk tirosin per menit (U/ml)

A sampel : nilai absorbansi sampel P : faktor pengenceran

A standar : nilai absorbansi standar 1/T : waktu inkubasi (10 menit)

A blanko : nilai absorbansi blanko

Aktivitas lipase adalah banyaknya enzim memecah lemak per satuan waktu, 1 U/ml lipase adalah jumlah lipase yang mampu memutuskan 1 μ mol asam lemak bebas tiap 1 menit. Aktivitas lipase diukur dengan metode Lindfield *et al.* (1984), ke dalam labu erlemeyer dimasukkan 2 gram minyak sawit, selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan enzim dan 4 ml buffer fosfat 0,05 M, pH 7,5. Pengadukan larutan selama 1 jam menggunakan magnetic stirrer, penambahan 10 ml aseton-alkohol (1:1), pengadukan diteruskan supaya homogen. Sebanyak 2-3 tetes indikator pp (phenolphthalein) ditambahkan ke dalam larutan tersebut, selanjutnya dilakukan titrasi, diperlukan KOH 0.05 N. Penghentian titrasi ketika larutan berwarna merah jambu yang menetap dan dilakukan pencatatan volume titrasi. Membuat larutan blanko, dengan penambahan larutan aseton-alkohol (1:1) dilakukan pada jam ke-0, sebelum pengadukan, dengan tujuan untuk menginaktifkan enzim. Perhitungan aktivitas enzim lipase menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas lipase (U/mL)} = \frac{(A - B) \times N \text{ KOH} \times 1000}{60}$$

Keterangan : A) banyaknya mL KOH yang dipakai titrasi sampel, B) banyaknya mL KOH yang dipakai titrasi blanko, 1000 adalah perubahan satuan dari mmol menjadi μ mol, dan 60 menyatakan 60 menit waktu reaksi (Murni, 2011).

2) Variabel Kesehatan Darah

Variabel kesehatan darah yang diukur meliputi kadar immunoglobulin darah, yaitu total protein plasma, kadar albumin, kadar globulin, kadar masing-masing fraksi globulin, uji kerusakan hati dengan SGPT/ALT dan SGOT/SPT.

a) Penetapan Biokimiawi Serum

Parameter yang diamati meliputi profil protein (protein total, albumin, globulin), profil lemak (trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL). Pengambilan sampel darah dilakukan pada saat ayam berumur 35 hari, 5 ekor tiap perlakuan, masing-masing diambil 3 mL, menggunakan spuit berisi antikoagulan EDTA melalui vena *axillaris*, kemudian plasma dipisahkan untuk dilakukan analisa selanjutnya. Pengujian biokimia serum dilakukan secara manual menggunakan microplate reader

ELISA assays, dengan merk Ez Read 400 Elisa, 80-4001-40, serial number 131022, produksi Biochrom, US, Molliston, MA 01746.

b) Penetapan Kadar AST dan ALT

Aktivitas enzim Aspartat Amino Transferase (AST/SGOT) dan Alanin Amino Transferase (ALT/SGPT) ditetapkan berdasarkan metode enzimatik, menggunakan spektrofotometer. Darah yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam tabung mikro sentrifuse dan diputar dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum selanjutnya dipisahkan dan digunakan untuk penentuan AST dan ALT. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer clinic 4010 pada panjang gelombang 310 nm (Syaharuddin, 2013). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis ANOVA, dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji DMRT.

3) Variabel Kecernaan Gizi

a) Uji Nilai Biologis Protein

Menimbang sampel sebanyak 0,51 gram, memasukkan kedalam labu kjeldahl 100 ml, menambahkan 2 gram campuran selen dan 25 ml H_2SO_4 pekat, memanaskan dengan pemanas listrik atau dengan api sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 2 jam), setelah itu mendinginkan sampel, mengencerkan dan memasukkan kedalam labu ukur 100 ml, mendiamkan sampai ada garis, mengambil 5 ml NaOH 30 % dengan pipet ukur lalu memasukkan kedalam alat penyuling dengan beberapa tetes indikator PP, menyuling sampel selama kurang lebih 10 menit, menaruh sampel kedalam 10 ml larutan asam borat 2 % yang telah dicampurkan indikator, membilas ujung pendingin dengan air sulingan, mentitar dengan larutan HCL 0.01 N, terakhir melakukan penetapan blanko (SNI 01-2891-1992). Melakukan penghitungan nilai biologis protein dengan menggunakan data nilai N pada ekskreta dan nilai N pada pakan yang dimasukkan kedalam rumus nilai biologis protein, sehingga akan diketahui seberapa besar ayam dapat menyerap protein dalam pakan.

b) Uji Retensi Nitrogen

Ayam yang dipilih untuk pelaksanaan uji retensi nitrogen, diawali dengan puasa selama 24 jam dengan tujuan untuk mengosongkan saluran pencernaan dari sisa pakan dan dilakukan pengumpulan ekskreta, selama pengumpulan ekskreta 2

jam sekali disemprot 0,01 N H₂SO₄ yang bertujuan untuk mencegah penguapan nitrogen dalam ekskreta, ekskreta dibersihkan dari benda asing yang menempel dan keringkan dengan oven 60°C, ekskreta yang sudah bersih ditimbang dan digiling, ekskreta kering dianalisis untuk mendapatkan nilai protein kasar dengan metode kjeldhal (Pratidina, 2010).

Konsumsi nitrogen diperoleh dari perhitungan mengalikan jumlah konsumsi pakan dengan kandungan protein kasar pakan (dengan metode Kjeldhal) dibagi 6,25.

$$\text{Konsumsi Nitrogen (g)} = \frac{A \times B}{6,25}$$

Keterangan:

A = Konsumsi pakan (g)

B = Kandungan protein kasar pakan (%)

Ekskresi nitrogen diperoleh dari perhitungan mengalikan jumlah ekskreta dengan kandungan protein kasar pada ekskreta.

$$\text{Ekskresi Nitrogen(g)} = \frac{A \times B}{6,25}$$

Keterangan:

A = Jumlah ekskreta (g)

B = Kandungan protein kasar ekskreta (%)

4) Variabel Tampilan produksi

Variabel tampilan produksi ayam broiler yang diukur adalah konsumsi, konversi, PBBH, bobot hidup, persentase karkas, komposisi gisi daging (bahan kering, protein kasar, lemak kasar, bahan organik, abu dan air), berat organ visceral dan indeks organ (usus halus, pankreas, hati, limpa, timus, dan bursa). Cara pengukuran berat organ-organ visceral, dilakukan dengan menimbang berat masing-masing organ visceral, indeks masing-masing organ adalah hasil bagi berat organ dibagi berat hidup dikalikan 100%.

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*), dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* L. Smith)

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Materia Medica Batu, Batu, Jawa Timur, Indonesia. Atas dasar determinasi, sampel yang diteliti merupakan tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L. Smith) dari famili *Zingiber*. Hasil uji determinasi secara lengkap sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Zingiberales</i>
Suku	: <i>Zingiberaceae</i>
Marga	: <i>Zingiber</i>
Jenis	: <i>Zingiber Zerumbet</i> L. Smith
Sinonim	: Lempuyang gajah (Jawa Tengah)

B. Karakterisasi Simplisia Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Karakterisasi simplisia *Z. zerumbet* yang dilakukan antara lain pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan uji makroskopis yang dilakukan dengan pengamatan langsung terhadap bentuk fisik herbal, *Z. zerumbet* merupakan tumbuhan semak, semusim, tinggi ± 1 m, sifat batang tegak, semu, membentuk rimpang. Daun memiliki ciri tunggal, bentuk lanset, tepi rata, ujung dan pangkal runcing, permukaan licin, panjang 25-40 cm, lebar 10-15 cm, hijau muda, pelepah bentuk batang, panjang ± 17 cm, tangkai panjang ± 10 cm, berwarna hijau. Bunga memiliki ciri bentuk bongkol, tumbuh dari pangkal rimpang, tangkai panjang ± 12 cm, merah, kelopak lepas satu dengan yang lain. Biji berbentuk bulat panjang, diameter ± 4 mm, hitam, memiliki akar berbentuk serabut dengan warna kuning keputih-putihan.

C. Hasil Pengujian Parameter Spesifik

Hasil uji identitas dan organoleptik dari ekstrak etanol *Z. zerumbet* ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Hasil Pengujian Identitas dan Organoleptik Ekstrak

Parameter	Hasil
Identitas	
Nama ekstrak	Ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah.
Nama Latin	<i>Zingiber zerumbet</i> L Smith
Bagian Tanaman	Rimpang/rhizoma
Organoleptik	
Warna	Kuning muda
Bau	Khas
Rasa	Kelat, agak pahit
Bentuk	Ekstrak kental

Berdasarkan hasil determinasi tanaman, uji identitas dan organoleptik ekstrak, menunjukkan bahwa ekstrak yang dibuat sebagai sampel penelitian merupakan ekstrak dari rhizome lempuyang gajah (*Z. zerumbet* L Smith) yang berasal dari kebun milik UPT Materia Medica Batu, Batu, Jawa Timur, Indonesia.

D. Karakteristik Ekstrak *Z. zerumbet* L Smith

Proses ekstraksi antimikroba dari rhizome *Z. zerumbet* dilakukan dengan maserasi, yaitu perendaman dalam pelarut, dilakukan pada suhu kamar, untuk meminimalkan kerusakan metabolit hasil ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah etanol, bertujuan untuk memperoleh antimikroba volatile maupun non volatile dari rhizome *Z. zerumbet*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hanani (2014), maserasi merupakan metode ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut yang diganti secara berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, suhu 45°C, sehingga dihasilkan ekstrak kental. Penguapan pada suhu rendah dimaksudkan untuk mengurangi kerusakan senyawa yang termolabil. Ekstrak kental hasil proses penguapan dilanjutkan dengan proses pengeringan, agar senyawa yang diekstrak terjamin stabilitasnya. Pada penelitian ini pengeringan dilakukan secara sederhana dengan penangas air. Gambar 8., hasil ekstrak kental dari rhizome *Z. zerumbet*.



Gambar 8. Ekstrak kental *Z. zerumbet* : A. etanol 95%, B. etanol 70% C. etanol 45%

1. Fitobiotik Ekstrak *Z. zerumbet*

Fitobiotik yang terkandung dalam ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penapisan fitobiotik Ekstrak etanol *Z.zerumbet*

Ethanol Extracts	Fitobiotik					
	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Terpenoid	Tannin	Steroid
45%	+	-	+	+	+	-
70%	+	-	+	+	+	-
95%	+	+	-	+	+	-

Penapisan fitobiotik berdasarkan 3 jenis reagen yang terdiri dari Meyer, Dragendrouf dan Bouchardat menunjukkan bahwa ekstrak *Z. zerumbet* mengandung berbagai senyawa kimia bermanfaat, yaitu saponin, tanin, alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid.

Berdasarkan Tabel 5., ekstrak *Z. zerumbet* dengan etanol 45% dan 70% mengandung alkaloid, terpenoid, tannin dan saponin, sedangkan pada ekstrak etanol 95% mengandung alkaloid, terpenoid, tannin dan flavonoid. Sesuai dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya, fitobiotik pada umumnya terdiri atas terpenoid (monoterpenoid, seskuiterpen, dan steroid), fenolik (tanin), glikosida, alkaloid flavonoid dan glukosinolat, saponin, dan zerumbon (Diaz-Sanchez *et al.*, 2015; Chang *et al.*, 2012). Ekstraksi dengan pelarut polar air, etanol, atau metanol bisa mengidentifikasi fenolat, flavonoid, dan seskuiterpenoid dalam *Z. zerumbet* (Hanani,

2014; Ganapathy dan Nair, 2017). Pelarut etanol dengan konsentrasi 95% adalah yang terbaik dan cocok untuk ekstraksi flavonoid dibandingkan konsentrasi yang lain. Flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak diduga berbentuk glikosida, mungkin sebagai flavonoid-O-glikosida atau flavonoid-C-glikosida, yaitu flavonoid yang berikatan dengan gula. Sejalan dengan pernyataan Hanani (2014), flavonoid merupakan senyawa polifenol, ada dalam dua bentuk, yaitu aglikon, bersifat kurang polar (isoflavon, flavanon, flavonol dan flavon termetilasi), hanya larut pada pelarut dengan polaritas rendah, seperti kloroform dan eter, namun bisa juga pada bentuk glikosida yang bersifat polar, sehingga mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol.

Zat-zat aktif dalam *Z. zerumbet* berupa tannin, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid cocok diekstrak menggunakan pelarut etanol (Pasril dan Yuliasanti, 2014), karena etanol memiliki kemampuan mengekstrak zat aktif dengan sifat polaritas yang luas, mulai dari senyawa non polar sampai polar (Saifudin *et al.*, 2011), ditambahkan oleh Golam *et al.* (2010), ekstrak etanol *Z. zerumbet* juga mengandung senyawa seskuiterpen dan zederon.

Alkaloid, terpenoid dan tannin berhasil diekstrak dari rhizome *Z. zerumbet* dengan pelarut etanol pada berbagai konsentrasi (45%, 70% dan 95%), hal ini memiliki arti penting bahwa ketiga senyawa tersebut memiliki berbagai sifat polaritas, alkaloid bersifat hidrofilik, sedangkan terpenoid dan tannin bersifat hidrofobik. Ketiga senyawa tersebut efektif sebagai antimikroba untuk menekan pertumbuhan bakteri Gram negatif, sebagaimana bakteri yang diujikan, yaitu *S. enteritidis*, karena dinding sel bakteri terdiri atas lipopolisakarida (LPS) yang bersifat polar (Huang *et al.*, 2018), alkaloid bisa melewatinya.

Berdasarkan pernyataan Hanani (2014), bahwa alkaloid dalam bentuk basa lebih larut dalam pelarut non polar, seperti eter, benzena, toluena dan kloroform, sedangkan dalam bentuk garam, alkaloid mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol dan air, maka diasumsikan bahwa alkaloid yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* terdapat dalam bentuk garam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hanani (2014), bahwa alkaloid pada tanaman umumnya dalam bentuk garam, yang terikat dengan asam organik yang ditemukan pada tanaman, seperti asam suksinat, maleat, mekonik, kinic, dan larut dalam pelarut etanol atau air.

Ekstrak etanol dari *Z. zerumbet* tidak mengandung steroid, sehingga saponin yang telah berhasil diekstraksi diduga berupa triterpen saponin, alasan tersebut berdasarkan pernyataan bahwa saponin dikelompokkan menjadi steroid saponin dan triterpen saponin, yang larut dalam air, tidak larut dalam eter, triterpen saponin biasanya bersifat asam karena mengandung satu atau dua gugus karbonil dalam aglikon, yang merupakan alkohol, aldehid atau asam karboksilat (Hanani, 2014).

Alkaloid berperan sebagai antibakteri, karena memiliki gugus basa yang mengandung unsur nitrogen (N), yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA bakteri, sehingga terjadi perubahan struktur asam amino dan keseimbangan genetik pada rantai DNA, yang pada akhirnya terjadi kerusakan dan kematian sel bakteri. Menurut Hashemi dan Davoodi (2010), alkaloid dikenal sebagai *intercalator* DNA dan penghambat sintesis DNA, dengan jalan menghambat enzim *topoisomerase* bakteri.

Alkaloid mengganggu terbentuknya jembatan silang komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh yang menyebabkan kematian sel bakteri, dilaporkan bahwa dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas 5-10% peptidoglikan, protein, dan LPS (lipid/fosfolipid, polisakarida dan protein), serta lipoprotein. Diduga mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu alkaloid terlebih dahulu merusak dinding sel dan dilanjutkan kerja flavonoid yang merusak membran sel bakteri (Retnowati *et al.*, 2011; Upa *et al.*, 2017).

Terpenoid berperan sebagai antibakteri karena mampu bereaksi dengan fraksi lipid membran plasma sehingga berakibat terjadi perubahan permeabilitas membran yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan sel, sebagai akibat terbentuk rongga pada lipid bilayer. Terpenoid dapat menghambat pertumbuhan mikroba yakni dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, diduga membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Terpenoid dapat menembus membran bakteri dan mencapai bagian dalam sel dengan kandungan polisakarida dan sifat lipofisitas, sehingga sel tersebut rusak (Hashemi dan Davoodi, 2010).

Tanin menyebabkan precipitasi protein sebagaimana efek yang sama dengan senyawa fenolik, bereaksi dengan membran sel bakteri, menyebabkan inaktivasi

enzim, destruksi maupun in aktivasi fungsi materi genetik, selanjutnya terjadi kematian sel. Alasan tersebut sesuai dengan pernyataan bahwa aksi penghambatan tannin pada bakteri terjadi pada membrane sel, melalui agregasi sel dan gangguan membran dan fungsi sel, pada umumnya tannin menyebabkan pengendapan protein, namun aktivitas anti-mikroba tannin bersifat spesifik, sesuai dengan komposisi kimia dan struktur tannin. *Condensed* tannin yang diisolasi dari beberapa tanaman telah terbukti memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri Gram-negatif, antara lain *Salmonella*, *Shigella*, *Staphyococcus*, *Pseudomonas* dan *Helicobacter pylori* (Liu *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013 dan Huang *et al.*, 2018).

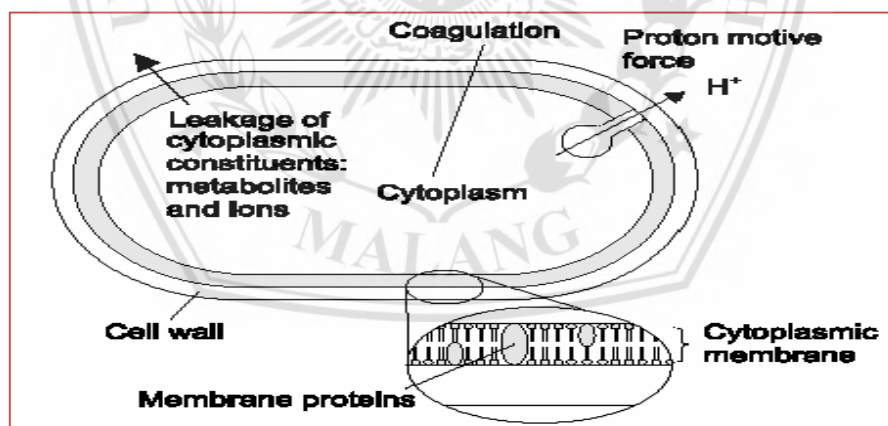
Ghasemsadeh *et al.* (2016) menemukan beberapa jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak rhizome *Z. zerumbet*, antara lain kuerecetin, kaempferol, catechin, dan mirycetin, yang kadarnya semakin meningkat sesuai dengan meningkatnya umur tanaman. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel bakteri sehingga menurunkan permeabilitas dinding sel (Nagappan *et al.*, 2011). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan dapat merusak membran sitoplasma dan mengganggu aktivitas enzim dan proses metabolisme bakteri (Retnowati *et al.*, 2011)

Senyawa tanin dan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang bersifat polar, karena mengandung gugus OH⁻, bersifat hidrofilik, sehingga bisa penetrasi ke dalam membrane sel bakteri, mengganggu transport elektron dengan cara menghambat NADH oksidase pada membrane sel yang pada akhirnya terjadi penghambatan respirasi dan kematian sel bakteri (Juriah *et al.*, 2014). Mekanisme aktivitas antimikroba tannin didasarkan atas penghambatan enzim seluler mikroba, perampasan substrat yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba, aksi langsung pada metabolisme mikroba melalui penghambatan fosforilasi oksidatif, perampasan ion logam atau pembentukan kompleks dengan membran sel dari bakteri yang menyebabkan perubahan morfologis dinding sel dan meningkatkan permeabilitas membran (Liu *et al.*, 2013).

Saponin bersifat larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam *ether* dan memberikan sifat deterjen, menghancurkan lipid membran (Fleck *et al.*, 2019). Mekanisme utama senyawa saponin sebagai antimikroba didasarkan pada

kemampuan saponin untuk membentuk sterol kompleks pada membran mikroorganisme, sehingga menghancurkan lipid membran dan menyebabkan bocornya membran sel. Saponin juga dapat meningkatkan permeabilitas membrane sel, memfasilitasi masuknya molekul melalui dinding sel, seperti antibiotik, sehingga mengakibatkan terjadinya hemolisis sel bakteri (Hashemi dan Davoodi, 2010; Upa *et al.*, 2017). Ditambahkan pernyataan Fleck *et al.* (2019), bahwa aktivitas biologis saponin terkait dengan susunan kimianya, sehingga mikroorganisme yang berbeda memiliki kerentanan yang berbeda terhadap aksi saponin.

Berdasarkan pernyataan Tripathi *et al.* (2013), terdapat dugaan mekanisme aksi fitobiotik yang ditemukan dalam ekstrak *Z. zerumbet* pada sel bakteri *Salmonella spp* adalah dengan degradasi dinding sel (Alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid), merusak membran sitoplasma (tannin, saponin, flavonoid, terpenoid), kerusakan protein membran (tannin, saponin, flavonoid), kebocoran isi sel (saponin), koagulasi sitoplasma (tannin), mengganggu transport elektron dan kerja enzim NADH oksidase pada membran (tannin dan flavonoid). Mekanisme fitobiotik terhadap sel bakteri selengkapnya ditampilkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Mekanisme Aksi fitobiotik terhadap sel bakteri (Tripathi *et al.*, 2013)

2. Komponen Fitobiotik dalam Ekstrak *Z. zerumbet*

Kandungan fitobiotik dalam ekstrak etanol *Z. zerumbet* dengan konsentrasi etanol 45%, 70% dan 95% berhasil dideteksi dengan metode GCMS (Gambar 4.3, Gambar 4.4 dan Gambar 4.5), sedangkan jenis dan persentase kelimpahan dapat dilihat pada Tabel 6. Pada ekstrak dengan etanol 45%, 70% dan 95%, secara berturut-turut diperoleh 2, 6 dan 13 jenis fitobiotik, etanol 95% berhasil mengekstraksi senyawa yang paling banyak jenisnya.

Berdasarkan Tabel 6., senyawa paling dominan yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* dengan berbagai konsentrasi etanol adalah *zerumbon*, pada etanol 45%, 70% dan 95% secara berurutan kandungan *zerumbon* adalah 91,011%, 75,422% dan 43,143%. Ditemukan pula senyawa lain, yaitu *alpha-humulene* (15,61%), *linalool* (10,76%) dan *humaladienone* (10,42%) pada ekstrak etanol 95%, yang merupakan ekstrak paling lengkap kandungan senyawa aktifnya. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya, bahwa *zerumbon* merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan dalam ekstrak etanol kasar *Z. zerumbet* (Yob *et al.*, 2011), dan termasuk dalam golongan seskuiterpenoid (Dai *et al.*, 2013 dan Golam *et al.*, 2010), dengan kadar 90,62% dalam fraksi minyak atsiri yang diperoleh dengan destilasi uap dan air (Mulyani, 2010).

Sharifi-Rad *et al.* (2017) melaporkan bahwa minyak atsiri *Z. zerumbet* yang diperoleh melalui hidrodistilasi dari rimpang mengandung *zerumbone* (69,9%), α *humulene* (12,9%), *humulene epoxide II* (2,5%), *caryophyllene oxide* (1,1%) dan *camphene* (1,9%). *Zerumbon* merupakan minyak atsiri mayor dengan persentase tertinggi dalam ekstrak *Z. zerumbet*, diikuti monoterpen, yaitu *humelen*, terpenoid yang lain, seperti *borneol*, α -*pinene*, *camphor*, *linalool*, *camphene*, *eucalyptol*, γ -*terpinene* dan β -*phellandrene* ditemukan dalam konsentrasi rendah (Sulaiman *et al.*, 2010).

Z. zerumbet diketahui juga mengandung *humulene* (monoterpen), *zederon phenolic*, *saponin* dan *terpenoid*, *alkaloid*, *flavonoid*, *polifenol* dan *minyak atsiri* (Golam *et al.*, 2010; Kader *et al.*, 2011; Hasheimi *et al.*, 2013 dan Yob *et al.*, 2011; Mulyani, 2010). Selain *zerumbon*, terpenoid yang ditemukan dalam *Z. zerumbet*,

antara lain *pinene*, *camphor*, *linalool*, *limonene*, *camphene*, *caryophyllene*, *3-carene*, *4-terpineol* dan *eucalyptol*, *isokariofilena*, *α -farnesena*, *germakron* (Mulyani, 2010).

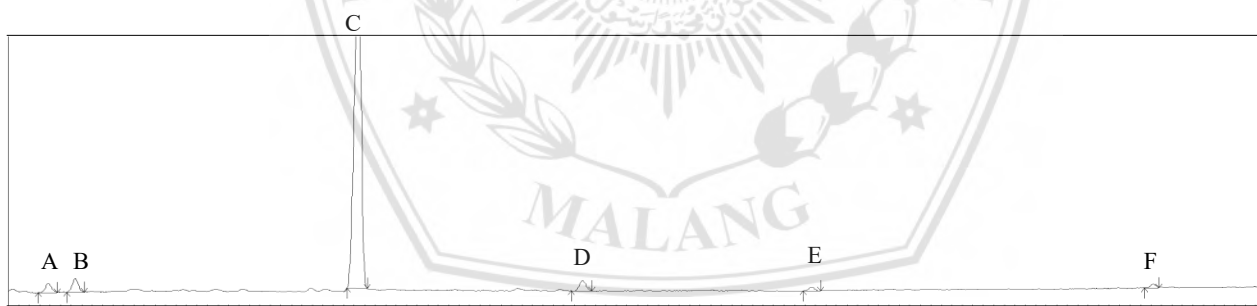
Tabel 6. Jenis-jenis Fitobiotik yang Terkandung dalam Ekstrak *Z. zerumbet* dan Persentase Kelimpahan dengan Metode GCMS

Ekstrak Etanol	No.	Senyawa	Waktu Retensi	% Area	Golongan
45%	1.	<i>Zerumbon (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien -1-one, 2,6,9,9-tetramethyl</i>	21.323	91,011	Seskuiterpenoid
	2.	<i>3- Tridecen-1-ync. (E) (CAS)</i>	23.474	8,989	Monoterpenoid
70%	1.	<i>1,5,9,11 Tridecatretane, 12-methyl, (E,E)-(CAS), 2,4,8,12-Tridecatretaene-2-methyl. Trans.Trans.SS</i>	18.367	4,709	Monoterpenoid
	2.	<i>Humuladienone</i>	18.640	18.640	Seskuiterpenoid
	3.	<i>Zerumbon (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien -1-one, 2,6,9,9-tetramethyl</i>	21.340	75.422	Seskuiterpenoid
	4.	<i>Patchulane</i>	23.482	5,172	Monoterpenoid
	5.	<i>7-Pentadecen-5 yne. (Z). (CAS)</i>	25.666	3,734	Seskuiterpenoid
	6.	<i>12,15-oktadecadienoic acid</i>	28.914	4,390	Seskuiterpenoid
95%	1.	<i>Linalool</i>	6.069	10,762	Monoterpenoid
	2.	<i>Bicyclol (2,2,1- heptan-2-one</i>	6.953	0,996	Seskuiterpenoid
	3.	<i>Alpha-Humulene</i>	15.095	15,607	Seskuiterpenoid
	4.	<i>Patchulane</i>	18.044	1,548	Monoterpenoid
	5.	<i>7-Pentadecen-5 yne. (Z). (CAS)</i>	18.383	7,056	Seskuiterpenoid
	6.	<i>Humuladienone</i>	18.642	10,421	Seskuiterpenoid
	7.	<i>Curdione</i>	20.897	1,240	Monoterpenoid
	8.	<i>Cis-1,7-Octadiene-3-yl acetate</i>	21,037	1,591	Monoterpenoid
	9.	<i>Zerumbon (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien -1-one, 2,6,9,9-tetramethyl</i>	21,397	43,143	Seskuiterpenoid
	10.	<i>1,5,9- Decatriene, 2,3,5,8- Tetramethyl</i>	22,865	1,361	Monoterpenoid
	11.	<i>Ledane</i>	23,486	3,466	Monoterpenoid
	12.	<i>Pentadecanoic acid</i>	25,669	1,162	Seskuiterpenoid
	13.	<i>Bicyclol (3,1,1 Heptane. 2,6,6 – trimethyl</i>	23,474	8,989	Monoterpenoid

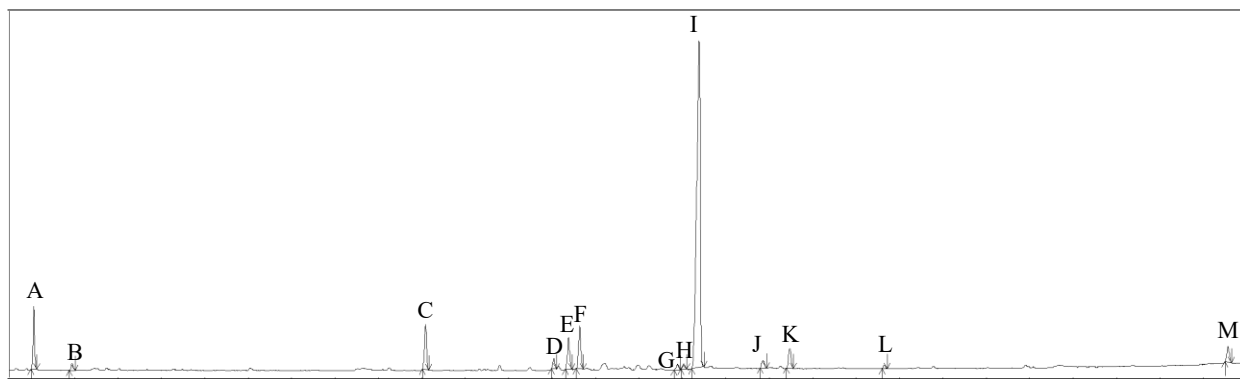
Zerumbon memiliki aktivitas antimikrobal, sebagai antibakteri dan anti fungal yang kuat (Kumar *et al.*, 2013), karena zerumbon memiliki gugus keton pada atom C-8 sehingga bersifat polar, yang bisa diekstrak menggunakan pelarut polar dan semi polar (Kapitan *et al.*, 2017). Kepolaran senyawa antimikroba merupakan sifat kimia penting, karena senyawa dapat larut dalam fase air dimana mikroba umumnya tumbuh dalam fase air. Gambar 10., Gambar 11., dan Gambar 12., menampilkan hasil chromatogram ekstrak *Z. zerumbet* dengan pelarut etanol pada konsentrasi 45%, 70% dan 95%.



Gambar 10. Chromatogram ekstrak etanol 45% dari rimpang *Z. zerumbet*
A. Zerumbone B. 3- Tridecen-1-yn-3-ol (CAS)



Gambar 11. Chromatogram ekstrak etanol 70% dari rimpang *Z. zerumbet*
A: Tridecatretene, B: Humuladienone, C: Zerumbone,
D: Patchulane, E: Pentadecanoic acid, F: oktadecadienoic acid



Gambar 12. Chromatogram ekstrak etanol 95% dari rimpang *Z. zerumbet*

A: Linalool, B: Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one, C: Alpha-Humulene,
D: Patchulane, E: 7-Pentadecen-5-yne, F: Humuladienone,
G: Curdione, H: Cis-1,7-Octadiene-3-yl acetate, I: Zerumbone,
J: 1,5,9- Decatriene, K: Ledane, L: Pentadecanoic acid,
M: Bicyclol (3,1,1 Heptane. 2,6,6 – trimethyl

E. Pengujian Kimia dan Mikrobiologis Ekstrak *Z. zerumbet*

Hasil pengujian terhadap kandungan abu, termasuk abu yang tidak larut asam, berat jenis, *total plate count* (TPC) dan kadar logam dalam ekstrak *Z. zerumbet* ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik Ekstrak *Z. zerumbet*

Ekstrak Etanol	Total Abu	Kadar Abu Tidak Larut Asam	BJ Ekstrak	Total Cemaran Bakteri (koloni/g)	Total Cemaran Kapang (koloni/g)	Kadar Logam (mg/Liter)		
						Pb	Cd)	As
45%	2,074± 0,0014	0,000 ± 0,0000	1,031 ± 0,0481	26×10 ³	0	1,24	0,4	0,1300
70%	0,991± 0,0028	0,099 ± 0,0000	1,030 ± 0,0601	1×10 ³	0	0,100	0,0300	<0,000 5
95%	2,287± 0,0063	0,149 ± 0,0693	1,151	0	0	<0,0005	<0,0005	<0,000 5
BPOM RI (2006)				1×10 ⁴	1×10 ³	10g/kg	0,3 mg/kg	5µg/kg

Tabel 7., menunjukkan bahwa hasil pengujian parameter non spesifik ekstrak *Z. zerumbet* yang meliputi kandungan total abu, abu tidak larut asam, total cemaran

bakteri, kapang dan logam telah memenuhi persyaratan BPOM RI (2006), sehingga selanjutnya ekstrak bisa digunakan sebagai *feed additive* pada pakan broiler.

F. Pengujian Aktivitas Antibakteri secara *In vitro*

Hasil ANAVA menunjukkan bahwa konsentrasi etanol, konsentrasi ekstrak dan interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap jumlah *Salmonella spp.* Hasil uji DMRT pengaruh konsentrasi etanol terhadap jumlah sel dan zona hambat *Salmonella spp.* ditunjukkan pada Tabel 8., sedangkan efek konsentrasi ekstrak *Z. zerumbet* terhadap kedua parameter ditunjukkan pada Tabel 9.

Tabel 8. Hasil Uji DMRT Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Jumlah sel ($\times \text{cfu } 10^8/\text{ml}$) dan Zona Hambat (mm) *Salmonella spp*

Konsentrasi Etanol	Jumlah sel <i>Salmonella spp</i> ($\times 10^8$ cfu /ml)		Zona Hambat (mm)	
	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>
45%	2.31 \pm 0.51 ^c	3.97 \pm 0.42 ^b	2.41 \pm 1.20 ^a	1.90 \pm 1.45 ^c
70%	2.41 \pm 0.29 ^b	4.52 \pm 0.29 ^c	3.40 \pm 0.69 ^c	1.79 \pm 0.18 ^b
95%	1.67 \pm 0.41 ^a	2.34 \pm 0.45 ^a	2.65 \pm 0.55 ^b	0.00 \pm 0.00 ^a

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan dalam Uji Duncan 5%.

Tabel 9. Hasil Uji DMRT Pengaruh Konsentrasi Ekstrak *Z. Zerumbet* Terhadap Jumlah sel ($\times \text{cfu } 10^8/\text{ml}$) dan Zona Hambat (mm) *Salmonella spp*

Konsentrasi Ekstrak <i>Z.zerumbet</i>	Jumlah sel <i>Salmonella spp</i> ($\times 10^8$ cfu /ml)		Zona Hambat (mm)	
	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>
2,5%	2.30 \pm 0.43 ^c	3.70 \pm 0.70 ^b	1.84 \pm 0.45 ^a	0.52 \pm 0.76 ^a
5%	2.35 \pm 0.51 ^{cd}	3.56 \pm 1.19 ^{ab}	2.38 \pm 1.00 ^b	1.00 \pm 0.77 ^b
7,5%	2.19 \pm 0.46 ^b	3.72 \pm 1.12 ^{bc}	3.37 \pm 0.35 ^c	1.88 \pm 1.57 ^d
10%	1.68 \pm 0.43 ^a	3.46 \pm 0.99 ^a	3.68 \pm 0.34 ^d	1.52 \pm 1.14 ^c

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan dalam Uji Duncan 5%. Huruf cd berarti tidak ada perbedaan dalam jumlah sel *S. enteritidis* dalam penggunaan ekstrak dengan konsentrasi 2,5% dan 5%. Huruf ab berarti tidak ada perbedaan dalam jumlah sel *S. typhimurium* dalam penggunaan ekstrak dengan konsentrasi 2,5% dan 5%. Huruf bc berarti tidak ada perbedaan dalam jumlah sel *S. typhimurium* dalam penggunaan ekstrak dengan konsentrasi 2,5% dan 7,5%

Berdasarkan Tabel 8., konsentrasi etanol 95% mampu menurunkan pertumbuhan baik *S. enteritidis* maupun *S. typhimurium*, sedangkan zona hambat tertinggi dicapai pada etanol 70% untuk *S. enteritidis* dan etanol 45 % pada *S. typhimurium*. Berdasarkan Tabel 4.6., konsentrasi ekstrak *Z. zerumbet* 10% terbaik menghambat kedua bakteri tersebut, demikian pula zona hambat tertinggi dicapai pada konsentrasi ekstrak 10% untuk *S. enteritidis*, namun terhadap *S. typhimurium* dicapai pada konsentrasi 7,5%.

Secara umum, sensitifitas *S. enteritidis* terhadap antibakteri dalam ekstrak *Z. zerumbet* lebih tinggi daripada *S. typhimurium*, terbukti jumlah bakteri *S. enteritidis* lebih rendah dan zona hambat ekstrak lebih tinggi. Alasan yang bisa dikemukakan yaitu membrane luar pada *S. enteritidis* diduga lebih hidrofilik daripada *S. typhimurium*, diduga membran luar lebih tipis. Hal ini sesuai pernyataan Diaz-Sanchez *et al.* (2015), bahwa *Essential Oils* (EOs) lebih efektif melawan Gram positif daripada Gram negative, senyawa fenol dari EOs tidak bisa menembus LPS, meskipun demikian membrane luar bakteri Gram negative tidak secara total impermeable, molekul hidrofobik bisa menembus lewat porin.

Sebagaimana dinyatakan bahwa pada umumnya bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa antimikroba daripada bakteri Gram negatif, hal ini berkaitan dengan perbedaan senyawa penyusun dinding sel, pada Gram negatif terdiri dari struktur LPS yang membuat dinding sel tidak tembus terhadap zat terlarut lipofilik, sebaliknya mudah dilewati molekul-molekul hidrofilik (Ghasemzadeh *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2013).

Penggunaan etanol 95% sebagai pelarut dalam ekstraksi *Z. zerumbet* dan konsentrasi ekstrak 10% memberikan aktivitas antibakteri yang tertinggi terhadap *Salmonella spp*. Hal ini berkaitan dengan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol *Z. zerumbet*, seperti flavonoid, alkaloid, tannin dan terpenoid, yaitu zerumbon yang memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Salmonella spp*. Mekanisme kerja zat aktif tersebut dengan menghambat sintesis dinding sel, fungsi membran dan sintesis protein (Pasril dan Yuliasanti, 2014).

Saponin menyebabkan kebocoran sel bakteri, karena merusak ikatan hidrofobik komponen penyusun membran sel, seperti protein dan fosfolipid serta larutnya komponen hidrofilik. Saponin merusak ikatan kation bivalent dengan LPS

pada bakteri Gram negatif (Netala *et al.*, 2015, Aiello dan Susan, 2012), mampu berinteraksi dengan komponen membran sel, seperti lipid A, menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel bakteri Gram negatif. Saponin juga menghambat aktivitas mannitol dehidrogenase (MDH) dan menurunkan kandungan *extracellular DNA* (eDNA), sehingga menghambat pembentukan biofilm sel bakteri (Ye *et al.*, 2015).

Flavonoid menghambat berbagai enzim, antara lain fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamine oksidase, protein kinase, DNA polimerase dan lipooksigenase. Senyawa flavonoid diduga memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Aiello dan Susan, 2012). Salah satu flavonoid, yaitu kaempferol dalam daun jangkang (*Homalocladium platycladum* (F. Muell) Bailey) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis* dan *S. typhimurium* (Nuria, *et al.*, 2011).

Antimikroba dari fitobiotik sebagai *feed additive* bisa mempengaruhi secara langsung atau tidak langsung terhadap mikrobiota, efek langsung dari minyak nabati adalah karena aktivitas lipofiliknya, adhesi dan masuk ke dalam membran bakteri yang mencegah aktivasi enzim bakteri. Senyawa fenolik karena hidrofobisitasnya mampu menghancurkan membran luar bakteri Gram negatif, dan mengganggu struktur bakteri (Akbarian *et al.*, 2013). Senyawa fenolik terutama dapat digunakan untuk mengurangi populasi bakteri di bagian proksimal intestinum, bagian yg lebih asam dari saluran pencernaan. Efek tidak langsung dari ekstrak tanaman telah dilaporkan karena mengurangi nilai pH ileum, sementara meningkatkan jumlah bakteri asam laktat dan mengurangi jumlah koliform di ileum dan caecal isi ayam broiler.

Ekstrak etanol 95% dari *Z. zerumbet* dengan konsentrasi ekstrak 10% memberikan aktivitas antibakteri yang tertinggi terhadap *Salmonella spp.* dan sensitifitas *S. enteritidis* terhadap ekstrak etanol *Z. zerumbet* lebih tinggi daripada *S. typhimurium*. Berdasarkan hasil tersebut maka untuk pengujian secara *in vivo* terhadap ayam broiler digunakan ekstrak lempuyang dengan etanol 95% dan konsentrasi ekstrak 10%. Ekstrak yang diperoleh dibuat bentuk serbuk dengan pemanasan dalam oven suhu rendah, yaitu 45°C dan sebagai pengikat ditambahkan amilum 5%.

G. Potensi Ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *Feed Additive* terhadap Kesehatan Intestinum Ayam Broiler

1. Evaluasi Jumlah *S. enteritidis* pada Feses Ayam Umur 28 Hari

Pemeriksaan jumlah *S. enteritidis* dilakukan pada ayam umur 28 hari dengan tujuan untuk mengetahui efektifitas ekstrak *Z. zerumbet* sebagai antibakteri dalam menghambat *S. enteritidis* yang lokasi kolonisasinya terjadi di akhir intestinum tenue, yaitu ileum. Hasil evaluasi jumlah *S. enteritidis* pada berbagai perlakuan dan kontrol ditampilkan pada Tabel 10.

Tabel 10. Evaluasi Jumlah *S. enteritidis* pada feses Ayam umur 28 hari (CFU/ml)

Perlakuan	Total <i>S. enteritidis</i> hari ke 28 (CFU/ml)
T0	179×10^2
T1	271×10^2
T2	242×10^2
T3	0
T4	0

Keterangan : T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Pada Tabel 10., terlihat bahwa pada T3 dan T4 tidak ditemukan *Salmonella* dalam feses pada saat ayam umur 28 hari, hal ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebesar 0,67 sampai 1% secara signifikan menurunkan jumlah *S. enteritidis* dalam feses, kenyataan ini membuktikan keistimewaan efikasi yang tinggi dari antimikroba yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* terhadap *S. enteritidis*, yaitu tetap bisa mempertahankan aktivitasnya sampai ke saluran pencernaan bagian belakang, yaitu sekum, tempat kolonisasi *S. enteritidis*. Pada umumnya, efikasi antimikroba, termasuk fitobiotik dalam menekan pertumbuhan *S. enteritidis* menjadi rendah, karena sifat antimikroba berkurang saat bergerak melalui saluran pencernaan (Diaz-Sanchez *et al.*, 2015). Lokasi kolonisasi *S. enteritidis* yang terjadi di sekum menyebabkan bakteri mudah mengakibatkan transmisi horizontal, kontaminasi kerabang telur oleh feses (Elazomi, *et al.*, 2016).

Zerumbon sebagai minyak atsiri dominan dalam *Z. zerumbet* diduga mampu merusak dinding sel dan integritas struktur membran *S. enteritidis*, sifat hidrofobiknya menyebabkan zerumbon bisa menembus membran sitoplasma, karena merusak lapisan polisakarida, asam lemak dan fosfolipid, sehingga membran bersifat lebih permeabel. Terjadi kebocoran ion-ion, reduksi potensial membrane, *collapse of the proton pump*, menghambat aktivitas sebagian besar enzim sehingga mengganggu metabolisme sel, perolehan energi menipis untuk sel, yang pada akhirnya terjadi kematian sel. Sesuai dengan temuan Sun *et al.*, (2018), minyak atsiri *1,8- Cineole* memiliki efek luar biasa terhadap sel *Salmonella spp*, menyebabkan gangguan aktivitas enzim-enzim yang berperan pada jalur glikolisis, glukoneogenesis, metabolisme piruvat, dan siklus asam sitrat.

Membran luar dari bakteri Gram negatif tidak sepenuhnya impermiabel, sehingga molekul hidrofobik dapat melewati pori-pori, hidrofobitas minyak atsiri memungkinkan kerusakan lipid membran sel dan mitokondria, membrane bersifat lebih permeabel dan menyebabkan kebocoran isi sel, terjadi kerusakan enzim-enzim, yang selanjutnya terjadi kematian sel (Diaz-Sanchez *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2018).

Ekstrak etanol *Z. zerumbet* mampu menembus dinding sel bakteri Gram negatif yang kompleks, yang terdiri atas lapisan luar (lipoprotein), lapisan tengah (lipopolisakarida/LPS) yang berperan menghalangi masuknya bahan bioaktif antibakteri dan lapisan dalam berupa peptidoglikan (Kapitan *et al.*, 2017). Zerumbon dan derivatnya, yaitu Zerumbol, Azzazerumbone 2, memberikan nilai MIC yang sama terhadap *E.coli*, yaitu sebesar 75 ppm, sedangkan Zerumbon Oxime memberikan MIC lebih tinggi, yaitu 100 ppm (Kumar *et al.*, 2013).

2. Morfologi Usus Halus

Pengaruh pemberian ekstrak etanol *Z. zerumbet* berpengaruh nyata terhadap parameter-parameter morfologi usus halus yang meliputi rata-rata ketebalan epitel (KE), tinggi villi (TV), kedalaman kript Liberkhun (KK) dan rasio tinggi villi/kedalaman kript (rasio TV/KK), sebagaimana ditampilkan pada Tabel 11.

Tabel 11. Pengaruh Ekstrak etanol *Z. zerumbet* terhadap Parameter-parameter Morfologi Usus Halus

Intestinum Tenue	Ketebalan epithel (KE) (μm)	Tinggi Villi (TV) (μm)	Kedalaman Kripte Lieberkhun KK (μm)	Rasio Tinggi villi/kedalaman Kripte Lieberkhun (Rasio TV/KK)
Duodenum				
T0	398,88 \pm 11,24	87,47 \pm 2,42	10,15 \pm 0,90	8,68 \pm 0,87
T1	404,49 \pm 22,47	75,58 \pm 13,94	15,86 \pm 2,14	4,76 \pm 0,62
T2	389,51 \pm 12,97	85,37 \pm 1,40	10,73 \pm 0,40	7,96 \pm 0,32
T3	397,00 \pm 12,97	74,64 \pm 10,12	10,96 \pm 1,07	6,90 \pm 1,51
T4	404,49 \pm 22,47	74,88 \pm 5,28	10,26 \pm 0,40	7,32 \pm 0,80
Jejunum				
T0	398,88 \pm 11,24	97,27 \pm 1,81	9,45 \pm 2,10	10,70 \pm 2,44
T1	397,00 \pm 12,97	101,94 \pm 14,95	17,49 \pm 2,10	5,87 \pm 0,95
T2	389,51 \pm 12,97	105,90 \pm 7,18	12,60 \pm 1,40	8,50 \pm 1,35
T3	397,00 \pm 12,97	83,74 \pm 0,40	13,06 \pm 0,81	6,43 \pm 0,37
T4	389,51 \pm 12,97	96,34 \pm 12,97	14,00 \pm 1,40	6,93 \pm 0,67
Ileum				
T0	393,26 \pm 12,97	41,11 \pm 3,85	7,70 \pm 1,81	5,56 \pm 1,27
T1	397,00 \pm 12,97	33,82 \pm 7,28	10,50 \pm 0,70	3,26 \pm 0,92
T2	389,51 \pm 12,97	44,32 \pm 3,98	10,26 \pm 1,07	4,35 \pm 0,61
T3	397,00 \pm 12,97	52,02 \pm 4,22	11,43 \pm 1,07	4,58 \pm 0,60
T4	397,00 \pm 12,97	47,35 \pm 1,76	11,66 \pm 1,07	4,09 \pm 0,50

Keterangan: T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Berdasarkan Tabel 11., baik pada duodenum, jejunum maupun ileum, rasio TV/KK terendah pada T1, yaitu pada kelompok kontrol positif, yang diinfeksi *S. enteritidis*, tetapi tanpa penambahan ekstrak *Z. zerumbet*, dan yang tertinggi dicapai pada kelompok kontrol negatif (T0). Hal ini menunjukkan bahwa infeksi *S. enteritidis* telah menyebabkan kerusakan intestinum tenue, di duodenum sebesar 45,16%, di jejunum 45,14% dan di ileum sebesar 41,37%. Infeksi *S. enteritidis* telah menyebabkan perubahan pada struktur mukosa usus, sehingga mengganggu proses pencernaan dan penyerapan nutrisi. Sebagaimana dinyatakan dalam Soeharsono (2010), mukosa usus memegang peranan penting dalam sekresi cairan usus dan penyerapan zat makanan. Cairan tersebut diproduksi oleh kelenjar di sepanjang mukosa, yaitu kript Lieberkuhn, yang menghasilkan enzim dan hormon.

Kerusakan intestinum tersebut terbukti bisa diperbaiki dengan penambahan ekstrak *Z. zerumbet*, hal ini didasarkan atas nilai rasio TV/KK pada T2, T3 dan T4 yang lebih tinggi daripada T1 dan mendekati nilai T0. Rasio TV/KK pada T1 adalah terendah dibandingkan perlakuan lain, baik pada duodenum, jejunum, maupun ileum, disebabkan KK yang tinggi. Perbaikan morfologi usus halus dalam penelitian ini cukup tinggi, secara berturut-turut di duodenum, jejunum dan ileum mencapai 72%; 79,43 % dan 82,37%.

Peningkatan nilai rasio TV/KK meningkatkan kemampuan digesti dan absorpsi intestinum tenue (Adibmuradi *et al.*, 2014), hal ini berkaitan dengan kandungan fitobiotik dalam ekstrak *Z. zerumbet*, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, fenol, polifenol, terpenoid, dan minyak atsiri, yang memiliki sifat antibakteri dan anti-inflamasi (Chang, *et al.*, 2012; Manullang *et al.*, 2015, Nasution *et al.*, 2014, Darsana *et al.*, 2012), sehingga menghambat pertumbuhan *S. enteritidis* dan mengurangi peradangan.

Kemampuan kerja intestinum ditentukan pula oleh nilai KE, semakin rendah nilai tersebut menunjukkan semakin tipis ketebalan epitel semakin meningkatkan kemampuan absorpsi dan menurunkan tuntutan metabolik sistem pencernaan, yang menyebabkan energi bersih meningkat, sehingga energi bisa digunakan untuk perbaikan produktivitas. Nilai KE terendah pada duodenum, jejunum maupun ileum adalah pada kelompok T2. Penebalan epitel pada enterosit bisa terjadi karena peningkatan produksi poliamin dan *volatile fatty acid* yang dihasilkan oleh mikroba patogen, dan dibutuhkan energi untuk *turn over* enterosit tersebut (Adibmuradi *et al.*, 2014).

3. Aktivitas Enzim Pencernaan di Usus Halus

Pengaruh perlakuan terhadap rata-rata aktivitas enzim-enzim pencernaan, yaitu lipase, protease dan amilase baik di usus halus bisa dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Aktivitas Enzim Pencernaan Usus Halus Broiler

Perlakuan	Aktivitas Enzim					
	Lipase (μ mol/menit)		Protease (IU/ml)		Amilase (IU/ml)	
	Pankreas	Usus Halus	Pankreas	Usus Halus	Pankreas	Usus Halus
T0	1,883	1,057	0,367	0,132	0,131	0,161
T1	1,794	1,056	0,463	0,227	0,032	0,122
T2	3,773	1,042	0,593	0,274	0,182	0,144
T3	1,450	1,346	0,300	0,375	0,091	0,227
T4	2,623	1,207	0,775	0,295	0,111	0,321

Keterangan: T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Berdasarkan Tabel 12., perlakuan T2 menunjukkan aktivitas tertinggi untuk semua enzim pankreas baik lipase, protease maupun amilase dibandingkan perlakuan lain maupun kontrol. Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebesar 0,33% mampu memperbaiki aktivitas enzim-enzim pankreas, yaitu amilase, lipase dan protease pada ayam penderita Salmonellosis (T1), lipase meningkat sebesar 52,45%, protease sebesar 21,92%, sedangkan amilase sebesar 82,42%. Pada perlakuan T1, yaitu ayam penderita Salmonellosis mengalami penurunan aktivitas enzim-enzim pankreas apabila dibandingkan kontrol, sebesar 4,73% pada lipase dan 75,57% pada amilase, tetapi meningkatkan protease sebesar 20,73%.

Penurunan aktivitas kedua enzim ini membuktikan bahwa infeksi *S. enteritidis* telah menyebabkan kerusakan morfologi usus, termasuk kerusakan kelenjar di sepanjang mukosa usus, yaitu kript Lieberkuhn yang mensekresi hormone cholestokinin-pancreosimin untuk menstimulasi sekresi enzim pankreas.

Berdasarkan Tabel 4.9, terjadi peningkatan aktivitas enzim-enzim pencernaan di semua bagian usus, yaitu duodenum, jejunum dan ileum, hal ini disebabkan kandungan minyak atsiri di dalam ekstrak yang bersifat antibakteri terhadap *S. enteritidis* pada broiler terinfeksi (T1) dan merangsang aktivitas enzim-enzim (lipase, protease dan amylase) pada broiler kontrol negatif (T0). Zerumbon merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan dalam ekstrak etanol kasar *Z. zerumbet* (Yob *et al.*, 2011), memiliki daya antibakteri terhadap *Salmonella sp.* dengan menghambat

sintesis dinding sel, fungsi membran dan sintesis protein (Pasril dan Yuliasanti, 2014). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peran ekstrak *Z. zerumbet* dalam pengendalian penyakit Salmonellosis sekaligus merangsang aktivitas enzim-enzim pencernaan sehingga bisa menggantikan peran AGP sebagai *feed additive* dalam pakan ayam broiler. Ekstrak *Z. zerumbet* mengandung alkaloid, terpenoid dan tannin, yang bersifat polar, sehingga bisa menembus LPS dari dinding sel *S. enteritidis* yang juga bersifat polar (Huang *et al.*, 2018).

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya, antara lain Akbarian *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa minyak nabati bersifat lipofilik, sehingga bisa menembus membran bakteri dan mencegah aktivasi enzim bakteri. Fitobiotik berupa senyawa fenolik bersifat hidrofobik, mampu menghancurkan membran luar bakteri Gram negatif melalui porus untuk bisa merusak dinding sel *S. enteritidis*. Efek tidak langsung dari ekstrak tanaman adalah mengurangi nilai pH ileum, sehingga meningkatkan jumlah bakteri asam laktat dan mengurangi jumlah bakteri patogen di ileum dan sekum isi ayam broiler.

Lebih lanjut Hashemi dan Davoodi (2011) melaporkan bahwa minyak atsiri bisa meningkatkan aktivitas enzim pencernaan pankreas, seperti tripsin dan amilase, sekresi garam empedu dan fungsi hati, ditambahkan oleh Diaz-Sanchez *et al.* (2015), minyak atsiri berupa *cinnamaldehyde* terbukti meningkatkan pencernaan lemak pada ayam broiler. Minyak atsiri, berupa terpenoid dalam ekstrak *Z. zerumbet* diduga dapat membantu pencernaan dengan merangsang sistem saraf sekresi, sehingga keluar getah lambung yang mengandung enzim seperti *pepsin*, *trypsin*, *lipase*, dan *amylase* yang disekresikan ke dalam lambung dan usus, sehingga dapat meningkatkan metabolisme zat zat makanan (Muiz, 2016 dan Etha, 2015).

H. Potensi Ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *Feed Additive* terhadap Biokimiawi Serum Ayam Broiler

1. Profil Protein Serum

Pengaruh pemberian ekstrak *Z. zerumbet* terhadap rata-rata kadar protein, albumin dan globulin serum broiler bisa dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Pemeriksaan Kadar Protein, albumin dan globulin Serum Darah (g/dl)

Perlakuan	Serum Darah		
	Kadar Protein	Kadar Albumin	Kadar Globulin
T0	5,87 ± 0,81 ^a	1,77 ± 0,53 ^a	3,65 ± 0,95 ^a
T1	5,74 ± 0,30 ^a	2,09 ± 0,37 ^a	3,83 ± 0,28 ^a
T2	5,81 ± 0,28 ^a	1,98 ± 0,29 ^a	4,09 ± 0,46 ^{ab}
T3	6,10 ± 1,05 ^a	1,84 ± 0,64 ^a	4,26 ± 1,05 ^b
T4	6,59 ± 1,06 ^a	1,54 ± 0,32 ^a	5,05 ± 0,99 ^b

Catatan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%. Huruf ab berarti tidak ada perbedaan kadar globulin antara T2 dengan T0 dan T1.

Keterangan: T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Tabel 13., menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh perlakuan terhadap kadar total protein dan albumin serum, dengan rata-rata kadar protein serum 5,74 - 6,59 g/dl, kadar tersebut sedikit lebih tinggi daripada hasil temuan El-Katcha *et al.* (2016) pada diet dengan ekstrak garlic, yaitu 5,51 – 5,99 g/dl. Diduga terdapat peran zerumbon dan flavonoid sebagai anti ulser, sehingga mampu memperbaiki kerusakan intestinum yang diakibatkan *S. enteritidis*. Menurut Sidahmed *et al.* (2015), zerumbon terbukti mampu meningkatkan pH lambung, mengurangi kerusakan epithelium dan nekrosis hemoragik pada mukosa lambung, mengurangi infiltrasi leukosit dan edema di submukosa lambung mencit penderita ulser lambung. Adanya flavonoid dalam ekstrak *Z. zerumbet* diduga berperan sebagai antiinflamasi, sehingga memperbaiki kerusakan usus akibat infeksi *S. enteritidis*. Dilaporkan oleh Marbun dan Restuati (2015), bahwa flavonoid berfungsi sebagai antihistamin melalui penghambatan adhesi leukosit ke dinding endothel, menurunkan jumlah leukosit yang *immobile*, menekan aktivasi komplemen sehingga menurunkan respon inflamasi.

Kurkumin yang terkandung dalam ekstrak *Z. zerumbet* diduga berperan sebagai hepatoprotektor, melindungi hati dari kerusakan dengan cara menangkap ion superoksida (O_2^-) dan memutuskan mata rantai ion antar superoksida, sehingga mencegah peroksidasi lipid dan meningkatkan enzim antioksidan yaitu *Superoxide*

Dismutase (SOD) mengkonversi superoksida menjadi zat yang non toksik (Syafitri, 2019).

Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Toghyani *et al.* (2010), protein serum darah menggambarkan kondisi suatu organisme dengan perubahan-perubahan akibat pengaruh faktor internal dan eksternal. Protein total serum dan albumin tidak dipengaruhi oleh suplementasi *Nigella sativa*, namun Miraghace *et al.* (2011) melaporkan bahwa *Nigella sativa* memberikan pengaruh nyata terhadap protein total dan albumin serum pada broiler.

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada penelitian ini berpengaruh terhadap level globulin, dengan level terendah terjadi pada kelompok T0 ($3,654 \pm 0,95$ g/dl), T1 ($3,83 \pm 0,28$ g/dl) dan T2 ($4,09 \pm 0,46$ g/dl). Level globulin ketiga perlakuan tersebut masih tergolong lebih tinggi daripada level hasil penelitian El-Katcha *et al.* (2016), yaitu $0,73 \pm 0,53 - 1,65 \pm 1,02$ g/dl pada broiler yang diberi suplementasi ekstrak garlic.

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%-1% (T3 dan T4) secara nyata meningkatkan level globulin pada broiler yang diinfeksi *S. enteritidis*, pada T3 ($4,26 \pm 1,05$ g/dl) dan pada T4 ($5,05 \pm 0,99$ g/dl), menunjukkan rata-rata yang lebih tinggi dibanding penelitian sebelumnya oleh Widhyari *et al.* (2011), bahwa kadar globulin plasma pada ayam umur 3 dan 6 minggu cenderung menunjukkan adanya perbedaan untuk setiap kelompok perlakuan ransum walaupun secara statistik tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Kadar globulin pada umur 3 minggu adalah ($2,78 \pm 0,32$) sampai ($3,18 \pm 0,52$) g/dl, sedangkan pada umur 6 minggu adalah ($3,33 \pm 0,29$) sampai ($3,65 \pm 0,31$). Peningkatan level globulin pada T3 dan T4 disebabkan kandungan zerumbon dalam ekstrak yang lebih tinggi daripada perlakuan lain, zerumbon bersifat sebagai immunomodulator.

Rendahnya level globulin pada T0 dan T1, disebabkan adanya infeksi *S. enteritidis*, karena pakan tidak mengandung zerumbon, sebagai immunomodulator yang merupakan fitobiotik dominan dalam ekstrak *Z. zerumbet*, hal ini menyebabkan bakteri pathogen tersebut mudah berpindah tempat ke dinding epitel dan pada akhirnya terjadi inflamasi yang semakin parah. Alasan ini sesuai dengan pernyataan Dash *et al.* (2016), zerumbone menyebabkan aktivasi kekebalan terus menerus, sangat diperlukan sebagai agen imunomodulator yang dapat bereaksi terhadap

produksi sitokin sel imun. Zerumbon merupakan metabolit sekunder tanaman dapat digunakan sebagai obat baru dalam mengobati berbagai penyakit kronis yang mengarah dari infeksi ke kanker terutama dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Pada perlakuan T2, level globulin tidak berbeda nyata ($P>0.05$) dengan T0 dan T1, karena kandungan zerumbon terlalu rendah, tidak cukup untuk menghasilkan sitokin sel imun.

2. Profil Lemak Serum (Trigliserida, Kolesterol, LDL dan HDL)

Infeksi *S. enteritidis* yang diikuti pemberian maupun tanpa pemberian ekstrak *Z. zerumbet* tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap level trigliserida, kolesterol, LDL maupun HDL dalam serum darah broiler. Hasil penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan Tufan *et al.* (2015), bahwa biji jintan hitam tidak berpengaruh pada VLDL, HDL, dan LDL ayam broiler.

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada broiler tidak mempengaruhi profil lemak serum, yang meliputi kadar trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL, sebagaimana ditampilkan pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida, Kolesterol, LDL dan HDL (mg/dl)

Perlakuan	Serum Darah			
	Kadar Trigliserida	Kadar Kolesterol	Kadar LDL	Kadar HDL
T0	55,5142 ± 11,30 ^a	158,6722 ± 18,68 ^a	150,0412 ± 18,86 ^a	32,6970 ± 4,17 ^a
T1	40,7476 ± 3,94 ^a	149,0456 ± 36,99 ^a	136,2654 ± 33,93 ^a	35,1866 ± 9,78 ^a
T2	45,7944 ± 10,82 ^a	138,0914 ± 26,77 ^a	126,9710 ± 26,95 ^a	34,1908 ± 7,48 ^a
T3	41,1214 ± 19,40 ^a	139,2530 ± 43,33 ^a	125,1450 ± 41,00 ^a	32,6970 ± 4,49 ^a
T4	37,5702 ± 16,58 ^a	149,7096 ± 14,49 ^a	141,9086 ± 15,46 ^a	30,5396 ± 6,85 ^a

Catatan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%.

Keterangan: T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Tabel 14., menunjukkan tidak ada perbedaan kadar trigliserida pada semua perlakuan, hal ini menggambarkan bahwa trigliserida belum dibutuhkan tubuh sebagai penyedia energi. Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebagai antibakteri berhasil menekan pertumbuhan *S. enteritidis* dan mampu memperbaiki pencernaan pasca infeksi, sehingga tidak terjadi kompetisi penggunaan energi antara broiler dengan bakteri tersebut. Hal ini sesuai pernyataan Tornheim dan Ruderman (2011),

bahwa kebutuhan energi dalam tubuh dicukupi dengan memanfaatkan cadangan energi bentuk trigliserida dalam jaringan lemak. Trigliserida serum darah hasil penelitian sebesar 37,57 - 55,51 mg/dl, jauh lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Hasanudin *et al.* (2013), sebesar 87,50 – 129,17 mg/dl dan 156-174 mg/dl (Toghyani dan Faghan, 2017).

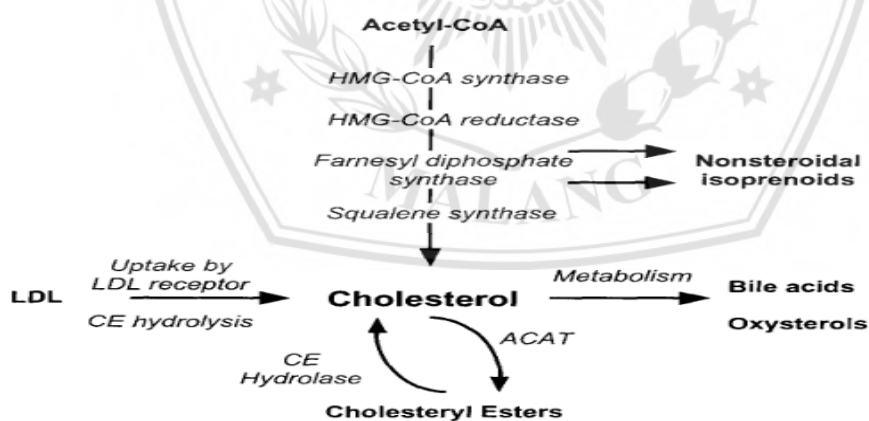
Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada broiler yang diinfeksi *S. enteritidis* tidak mempengaruhi kadar kolesterol, sehingga lebih lanjut tidak berpengaruh terhadap kadar LDL dan HDL. Diketahui bahwa LDL dan HDL adalah lipoprotein pengangkut kolesterol, kadar kedua jenis lipoprotein ini dipengaruhi oleh level kolesterol. Level kolesterol darah broiler hasil penelitian (138,09 - 158,67 mg/dl) tergolong lebih rendah dibandingkan temuan Toghyani dan Faghan (2017), sebesar 177-185 mg/dl dan 169,67-194,76 mg/dl, pada diet ekstrak garlic (El-Katcha *et al.*, 2016). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini, kebutuhan kolesterol ayam broiler untuk berbagai tujuan, seperti pembentukan membran sel, sistem syaraf pusat, vitamin D, telah terpenuhi dari pakan. Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* 0,33% - 1% bisa mempertahankan fungsi organ-organ dalam sistem pencernaan broiler penderita Salmonellosis, sehingga biosintesis kolesterol dalam intestinum tenue dan hati berlangsung normal.

Senyawa fenol dalam ekstrak, yaitu tannin dan flavonoid berperan sebagai antioksidan, dengan mekanisme sebagaimana pernyataan Purvaca *et al.* (2015), bahwa fenol bisa meniadakan anion superoksida dan radikal bebas hidroksil serta meningkatkan aktivitas enzim **Glutation-S-transferase**, sehingga meningkatkan konversi kolesterol menjadi asam empedu yang berakibat menurunkan kadar kolesterol. Dilaporkan Waheed *et al.* (2017), senyawa limonene sebagai monoterpen dan polifenol dalam *Z. zerumbet* mampu menurunkan kolesterol dengan menekan absorpsi kolesterol dan meningkatkan ekskresi asam empedu. Produksi asam empedu merupakan jalur katabolik kolesterol paling penting, perubahan kolesterol menjadi asam empedu dalam hati mencegah tubuh terbebani dengan kolesterol.

Level HDL (30,54 - 35,19 mg/dl) dalam penelitian ini tergolong normal, apabila dibandingkan hasil percobaan Hasanudin *et al.*, (2013), yaitu 24,20 – 46,20 mg/dl. HDL merupakan lipoprotein dengan berat jenis tinggi, berfungsi membawa kolesterol dari berbagai jaringan ke hati untuk bahan baku pembuatan empedu dan

hormon, sehingga HDL kadar tinggi bisa menurunkan kolesterol, sebaliknya, LDL bertanggung jawab sebagai karier kolesterol dari hati ke jaringan tubuh. Kadar LDL hasil penelitian 125,15 - 150,04 mg/dl, lebih rendah daripada level LDL pada ayam broiler yang diberi air perasan jeruk nipis sebagai acidifier, yaitu 119,19 – 232,65 mg/dl (Hasanudin *et al.*, 2013).

Beberapa tahapan metabolisme kolesterol, yaitu (a) hati menggunakan prekursor kolesterol berupa *Asetyl Coenzim-A (Asetyl-CoA)*, hasil metabolisme karbohidrat dan lemak (b) perubahan *Asetyl-CoA* menjadi 3-hidroxy-3-metylglutaryl-CoA (*HMG-CoA*) yang dikatalisis oleh enzim *HMG-CoA synthase* (c) sintesis mevalonat dari *HMG-CoA*, (d) mevalonat membentuk molekul *Isopentyl Pyrophospat (IPP)*, yang selanjutnya terbentuk Isoprenoid, dengan melepaskan molekul CO₂, (e) pembentukan senyawa skualen, dari kondensasi enam unit isoprenoid, (f) siklisasi skualen untuk pembentukan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol, (g) lanosterol selanjutnya membentuk kolesterol setelah melewati beberapa tahap, termasuk pelepasan tiga gugus metil (Djaelani dan Tana, 2015). Gambar 13., menunjukkan bagan proses metabolisme dan jalur transportasi dalam mengontrol kolesterol.



Gambar 13. Bagan singkat proses metabolisme dan jalur transportasi yang mengontrol kadar kolesterol (Djaelani dan Tana, 2015).

Flavonoid, alkaloid dan tannin dalam ekstrak *Z. zerumbet* berperan penting dalam kontrol kolesterol, sehingga dalam penelitian ini kadar kolesterol dan LDL relatif rendah, sebaliknya terdapat kecenderungan kadar HDL yang tinggi. Menurut

Artha *et al.* (2017), flavonoid merupakan antioksidan untuk mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif dengan secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung yaitu dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menghilangkan efek toksik dari radikal bebas, sedangkan secara tidak langsung melalui peningkatan ekspresi gen antioksidan endogen. Flavonoid sebagai inhibitor enzim *HMG-CoA reductase* sehingga menurunkan sintesis mevalonat, yang selanjutnya diikuti penurunan sintesis kolesterol dalam hati.

Alkaloid berperan sebagai antioksidan, pendonor ion hidrogen untuk menghilangkan radikal bebas, seperti flavonoid. Fitobiotik tersebut juga menghambat aktivitas enzim lipase pankreas yang berakibat pada peningkatan ekskresi lemak melalui feses, hambatan penyerapan lemak oleh hati sehingga tidak dapat diubah menjadi kolesterol (Lajuck, 2012).

Tanin bersifat menurunkan kadar glukosa darah dengan hambatan metabolisme glukosa dan lemak sehingga terjadi penurunan sintesis *Acetyl-CoA*, fitobiotik tersebut juga menghambat absorpsi lemak, termasuk kolesterol di usus dengan cara bereaksi dan mengendapkan protein mukosa sel epitel usus, sehingga mengganggu transport kolesterol oleh kilomikron ke hati (Lajuck, 2012 dan Ekananda, 2015)

3. Kadar *Alanine Aminotransferase* (ALT), *Aspartat Aminotransferase* (AST) dan Malondialdehid (MDA)

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada broiler penderita Salmonellosis secara nyata meningkatkan ALT, yang juga dikenal *Serum Glutamic Piruvat Transaminase* (SGPT) dan AST yang disebut juga *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT), tetapi tidak mempengaruhi kadar MDA, sebagaimana ditampilkan pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT, SGOT dan MDA

Perlakuan	Serum Darah		
	Kadar SGPT (ALT) (μ /L)	Kadar SGOT (AST) (μ /L)	Kadar MDA (μ .mol/ml)
T0	$3,248 \pm 0,01^a$	$5,1900 \pm 0,36^a$	$1,538 \pm 0,04^a$
T1	$3,366 \pm 0,21^a$	$5,7360 \pm 0,37^b$	$1,590 \pm 0,09^a$
T2	$3,864 \pm 0,24^b$	$5,2880 \pm 0,45^a$	$1,638 \pm 0,17^a$
T3	$3,954 \pm 0,27^b$	$5,8280 \pm 0,32^b$	$1,620 \pm 0,15^a$
T4	$3,854 \pm 0,41^b$	$6,1000 \pm 0,61^b$	$1,522 \pm 0,09^a$

Catatan : ALT (Alanin Amino Transferase) = SGPT, AST (Aspartat Amino Transferase) = SGOT. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%.

Keterangan : T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Rataan kadar ALT hasil penelitian berkisar antara $3,248 \pm 0,01$ sampai dengan $3,954 \pm 0,27 \mu$ /L, sedangkan kadar AST antara $1,538 \pm 0,04$ sampai dengan $1,638 \pm 0,17 \mu$ /L. Rataan tersebut lebih rendah daripada hasil penelitian penggunaan *Nigella sativa* dan *Menta piperita*, secara terpisah ataupun campuran, kadar ALT antara $4,9 \pm 0,53$ sampai dengan $6,10 \pm 0,59 \mu$ /L dan AST, antara $7,40 \pm 0,31$ sampai dengan $8,20 \pm 0,49 \mu$ /L (Marian *et al.*, 2017).

Ayam yang diberi ekstrak *Z. zerumbet* 0,67 -1% memiliki kadar AST yang sama dengan kelompok kontrol positif (T1), namun pada penambahan ekstrak 0,33% memiliki kadar yang sama dengan kontrol negatif (T0). Pada level 0,67 – 1%, ekstrak *Z. zerumbet* menurunkan fungsi hati, hal sesuai dengan pernyataan Yob *et al.*, (2011), hasil pemeriksaan darah menunjukkan peningkatan signifikan ALT, ALP dan AST serum ayam pedaging setelah 7 dan 14 hari pengobatan dengan *aquoeus extract of rhizome Z. zerumbet* (AEZZ) 2mg / kg berat badan, namun pengamatan histopatologis terhadap hati dan ginjal pada tingkat makroskopik dan mikroskopis tidak menunjukkan adanya perubahan pada kedua organ. Onyimonyi (2013) menjelaskan bahwa enzim ALT dilepaskan ketika terdapat kerusakan jaringan hati, bilirubin adalah produk pemecahan akhir haemoglobin, adanya peningkatan ALT dan bilirubin sebagai tanda diagnosa telah terjadi kerusakan hati.

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* tidak mempengaruhi kadar MDA broiler pada semua kelompok perlakuan maupun kontrol, hal ini menunjukkan tidak terjadi stress oksidatif pada broiler, sebagaimana dinyatakan bahwa MDA merupakan senyawa reaktif berpotensi mutagenik, karena MDA bisa bereaksi dengan *deoxy adenosin* dan *deoxy guanosin* menyebabkan mutasi DNA. MDA juga bisa merusak sel (sitotoksik), karena menyebabkan peroksidasi phospholipid pada membrane sel. Sesuai dengan pernyataan Syafitri (2019), kurkumin mampu menurunkan peroksidasi lipid dengan menangkap ion superoksida (O_2^-), ion ini dikonversi menjadi zat yang tidak toksik oleh enzim Superoksida Dismutase (SOD).

Profil Leukosit

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada broiler yang diinfeksi *S. enteritidis* tidak mempengaruhi total leukosit dan persentase limfosit, tetapi mempengaruhi persentase monosit dan neutrophil, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 16.

Tabel 16. Jumlah Leukosit dan persentase masing-masing jenis sel

Perlakuan	Sel-sel Leukosit			
	Total Leukosit ($\times 10^3$)	Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)
T0	$20,0 \pm 6,02^b$	$2,0 \pm 0,54^a$	$1,4 \pm 0,19^a$	$43,08 \pm 0,90^a$
T1	$12,6 \pm 0,40^a$	$1,9 \pm 0,53^a$	$1,6 \pm 0,44^{ab}$	$45,72 \pm 2,57^a$
T2	$15,7 \pm 2,34^a$	$2,0 \pm 0,56^a$	$1,7 \pm 0,13^b$	$47,48 \pm 2,52^{ab}$
T3	$15,5 \pm 1,37^a$	$2,2 \pm 0,38^a$	$2,2 \pm 0,08^c$	$51,54 \pm 4,91^b$
T4	$15,1 \pm 0,86^a$	$2,6 \pm 0,64^a$	$2,6 \pm 0,15^d$	$50,72 \pm 4,93^b$

Catatan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%. Huruf ab berarti tidak ada perbedaan jumlah monosit antara T1 dengan T0, tidak ada perbedaan jumlah neutrophil antara T2 dengan T1 dan T0.

Keterangan : T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

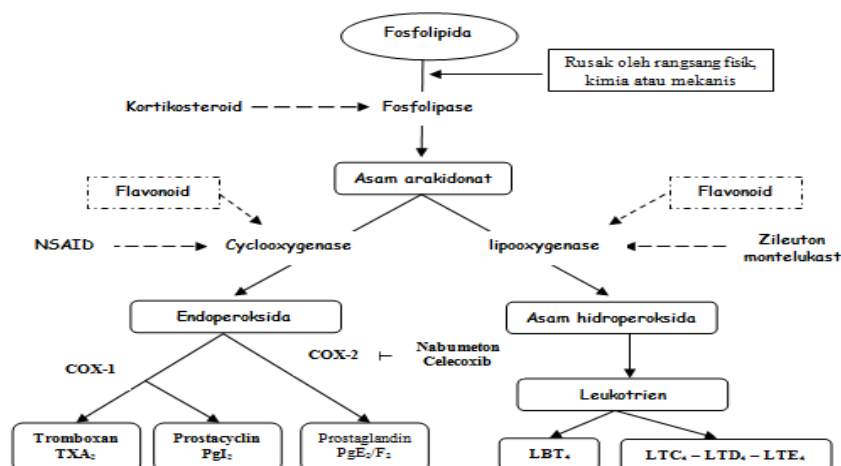
Tabel 16., menunjukkan adanya perbedaan total leukosit, kelompok kontrol negatif (T0) memberikan nilai tertinggi, namun masih menunjukkan jumlah leukosit dalam kisaran normal, yaitu $20,0 \pm 6,02 \times 10^3/\text{ml}$, sebagaimana menurut Arfah (2015), jumlah total leukosit normal pada broiler adalah $12-30 \times 10^3/\text{ml}$. Hal ini diperjelas dengan pernyataan Martha *et al.* (2018), bahwa total leukosit ayam broiler berumur 35 hari yang diberi berbagai pakan komersial, masih dalam kisaran normal, yaitu $8,78 \pm 2,58 \times 10^3$ hingga $9,86 \pm 1,48 \times 10^3/\text{ml}$, demikian pula Hartoyo *et al.*

(2015) melaporkan bahwa tingkat leukosit ayam broiler yang diberi suplemen herbal hingga 6% adalah $25,19 \pm 7,97 \times 10^3/\mu\text{l}$, yang tetap dalam kisaran normal.

Peningkatan leukosit mencerminkan respons seluler dan humoral terhadap agen patogen penyebab penyakit. Dinyatakan Soeharsono *et al.* (2010), bahwa kesehatan ternak dapat diukur dari leukosit total, karena peningkatan leukosit adalah parameter kekebalan tubuh, dan penurunan leukosit dapat diartikan di dalam tubuh tidak ada infeksi bakteri patogen. Tingginya total leukosit pada perlakuan T0 dibandingkan perlakuan lain diduga terdapat infeksi *S. enteritidis*, melalui pakan yang terkontaminasi bakteri tersebut, sedangkan rendahnya total leukosit pada perlakuan lain menunjukkan suplemen ekstrak *Z. zerumbet* mampu berperan sebagai anti inflamasi, menekan peradangan sebagai akibat infeksi *S. enteritidis*.

Diduga akibat infeksi *S. enteritidis* tersebut menimbulkan kerusakan fosfolipida sel-sel mukosa usus dan menginisiasi terjadinya inflamasi. Dugaan ini berdasarkan teori bahwa beberapa substansi dihasilkan saat terjadi inflamasi, seperti prostaglandin, tromboksan dan leukotrien sebagai respon pertahanan tubuh atas suatu rangsang. Prostaglandin merupakan senyawa yang dominan dan sebagai faktor penyebab terbentuknya udem serta infiltrasi leukosit pada daerah yang meradang (Smyth dan FitzGerald, 2012).

Dinyatakan Tjay dan Rahardja (2015), fosfolipida yang rusak diubah oleh enzim fosfolipase menjadi asam arakidonat, sebagian asam tersebut diubah menjadi endoperoksida oleh enzim siklooksigenase yang selanjutnya terbentuk senyawa prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan, sebagian yang lain dari asam diubah menjadi leukotrien oleh lipooksigenase. Pada penelitian ini flavonoid diduga memiliki kemampuan sebagai anti inflamasi dengan menekan aktivitas enzim siklooksigenase dan lipooksigenase (Gambar 14.).



Gambar 14. Bagan mekanisme perubahan asam arakidonat (Tjay dan Rahardja, 2015).

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah limfosit antara perlakuan, hal ini membuktikan adanya peran fitobiotik dalam ekstrak *Z. zerumbet* bisa mengatasi infeksi *S. enteritidis*, karena limfosit berperan dalam memproduksi antibodi sebagai respon tanggap kebal terhadap antigen. Penurunan limfosit dapat diakibatkan oleh infeksi virus, bakteri, parasit, atau jamur, dan kondisi stres.

Falvonoid dan alkaloid dalam ekstrak *Z. zerumbet* diduga memiliki kemampuan sebagai imunomodulator, dengan jalan meningkatkan aktivitas IL-2 (*interleukin 2*) dan proliferasi limfosit. Sel Th1 (*T helper 1*) yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Specific Macrophages Activating Factor*) seperti sitokin IFN- γ (*interferon gamma*) yang dapat mengaktifkan makrofag (Abbas *et al.* 2011; Baratawidjaja dan Rengganis, 2012).

Flavonoid bertindak sebagai antiinflamasi karena memiliki aksi dalam penghambatan akumulasi leukosit di tempat terjadinya inflamasi. Pada saat normal leukosit bebas bergerak sepanjang dinding endothelium, sebaliknya pada saat inflamasi, adanya mediator turunan endothelium dan faktor komplemen diduga mengakibatkan adhesi leukosit ke dinding endotel, leukosit bersifat immobil dan merangsang degranulasi neutrofil. Penambahan flavonoid bisa menekan jumlah leukosit immobil dan mengurangi aktivtasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel serta peneurunan respon inflamasi (Marbun dan Restuati, 2015).

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* dosis 0,33 persen (T2) memberikan jumlah monosit lebih rendah dibandingkan T3 dan T4 serta mendekati jumlah yang dicapai oleh kelompok kontrol negatif. Ekstrak pada dosis 0,67% -1% menunjukkan adanya khasiat fitobiotik, yaitu flavonoid, alkaloid, tannin berperan sebagai antibakteri dan anti inflamasi. Senyawa tanin dan flavonoid bisa menembus membrane *S. enteritidis* dan mengganggu transport electron, selanjutnya menghambat NADH oksidase pada membrane sel, menghambat respirasi dan menyebabkan kematian sel bakteri (Juriah *et al.*, 2014). Tannin mengganggu metabolisme mikroba melalui penghambatan fosforilasi oksidatif, perampasan ion logam atau pembentukan kompleks dengan membran sel bakteri, sehingga terjadi perubahan morfologis dinding sel dan peningkatan permeabilitas membran (Liu *et al.*, 2013).

Monosit sangat penting untuk fagositosis bakteri patogen dan berfungsi sebagai homeostasis selama peradangan dan respons imunitas. Monosit dimobilisasi bersama dengan neutrofil dan membentuk lapisan pertahanan kedua melawan peradangan, terbentuk di sumsum tulang, sel tersebut menjadi dewasa ketika memasuki sirkulasi dan berubah menjadi makrofag di jaringan. Pada sistem kekebalan, monosit berfungsi sebagai makrofag yang menelan dan menghancurkan sel asing, patogen dan membentuk kekebalan tubuh.

I. Potensi Ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *Feed Additive* terhadap Performa Ayam Broiler

1. Kecernaan Zat Gizi

Infeksi *S. enteritidis* dan pemberian ekstrak *Z. zerumbet* tidak mempengaruhi nilai kecernaan LK, NBP dan RN, tetapi berpengaruh nyata terhadap kecernaan BO, dengan kecernaan tertinggi pada kelompok kontrol negatif (T0), sedangkan perlakuan T2, T3 dan T4 memiliki kecernaan BO yang sama (Tabel 17).

Kecernaan BK, LK, SK, NBP dan RN yang sama antara perlakuan menunjukkan peran ekstrak *Z. zerumbet* yang mampu memperbaiki kerusakan struktur mukosa intestinum broiler yang diinfeksi *S. enteritidis*, sehingga fungsi kecernaan terhadap nutrisi tersebut bisa normal kembali.

Tabel 17. Nilai Kecernaan Zat Gizi

Perlakuan	Nilai Kecernaan Zat Gizi (%)					
	NBP	RN	BK	LK	BO	SK
T0	60.77±7.03 ^a	0.68±0.11 ^a	77.43±2.10 ^a	91.98±1.81 ^a	79.51±1.80 ^c	60.83±6.68 ^a
T1	60.47±9.13 ^a	0.68±0.14 ^a	76.15±2.77 ^a	91.72±1.53 ^a	78.15±2.45 ^b	57.99±10.40 ^a
T2	48.82±5.44 ^a	0.51±0.08 ^a	73.44±2.76 ^a	91.94±1.76 ^a	76.18±2.25 ^{ab}	54.19±9.84 ^a
T3	51.84±9.02 ^a	0.59±0.09 ^a	70.56±2.43 ^a	92.44±2.58 ^a	73.12±1.99 ^a	47.39±8.80 ^a
T4	56.65±5.42 ^a	0.62±0.08 ^a	73.35±3.56 ^a	91.49±1.43 ^a	75.53±3.43 ^{ab}	48.80±7.78 ^a

Catatan : Nilai Biologis Protein (NBP), Retensi Nitrogen (RN), Lemak Kasar (LK), Bahan Organik (BO), Serat Kasar (SK). Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%, Huruf ab berarti tidak ada perbedaan kecernaan BO antara T2, T4 dengan T3.

Keterangan: T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Rataan kecernaan BO hasil penelitian berkisar antara 73.12±1.99 persen sampai 79.51±1.80 persen, merupakan kisaran yang lebih tinggi daripada hasil penelitian Rijal (2017), yang berkisar antara 60,12 persen sampai 61,45 persen. Kecernaan BO pada perlakuan T1 lebih rendah daripada T0, diduga adanya infeksi *S. enteritidis* telah menyebabkan kerusakan mukosa usus, sehingga terjadi gangguan produksi hormon duodenum yang merangsang sekresi enzim-enzim digesti dari pankreas maupun cairan usus.

Enzim-enzim dari mukosa usus halus yang memegang peran penting dalam proses digesti, antara lain aminopeptidase, fosfatase, disakaridase, amilase dan lipase. Cairan usus juga menghasilkan nukleosidase dan nukleotidase untuk memecah asam nukleat, serta enterokinase pengaktif tripsinogen menjadi tripsin.

Kecernaan BO pada perlakuan T2, T3 dan T4 menunjukkan nilai yang sama dan lebih rendah apabila dibandingkan kelompok kontrol (T0 dan T1), hal ini disebabkan kandungan zat antinutrisi berupa tannin dalam ekstrak *Z. zerumbet*. Dilaporkan Kumar *et al* (2005), bahwa tannin dalam ransum dapat menurunkan kecernaan nutrisi pakan, dikarenakan dapat menyebabkan luka pada saluran pencernaan. Artha *et al.* (2017) menyatakan bahwa tannin menurunkan kadar glukosa darah melalui pengaturan metabolisme glukosa dan lemak, juga bisa bereaksi dengan protein dan sel epitel usus, menyebabkan pengendapan protein mukosa usus halus yang mengakibatkan efektifitas penyerapan lemak dan kolesterol berkurang.

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada perlakuan T2, T3 dan T4 sebanyak 0,33 persen, 0,67 persen dan 1 persen dalam pakan tidak mempengaruhi pencernaan SK, hal ini disebabkan penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sampai 1% tidak menyebabkan perbedaan kandungan SK dalam ransum, yaitu sebesar 5%. Rataan pencernaan SK yang diperoleh dalam penelitian ini berkisar antara 47.39±8.80% sampai dengan 60.83±6.68%, dan angka ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Suprijatna (2010), yaitu antara 20 sampai 30 persen.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi pencernaan SK pada ayam yaitu kandungan SK dalam ransum dan jumlah SK yang dikonsumsi, semakin tinggi kandungan dan konsumsi SK akan memberikan pengaruh negatif terhadap metabolisme energi, apabila polisakarida dalam serat kasar tidak dapat dicerna, maka akan menurunkan ketersediaan energi dalam ransum, sedangkan jika polisakarida dalam serat kasar dapat dicerna, maka akan meningkatkan ketersediaan energi dalam ransum dan meningkatkan energi metabolis.

2. Persentase Berat Organ Visceral

Penambahan ekstrak *Z. zerumbet* pada broiler yang diinfeksi *S. enteritidis* mempengaruhi berat organ visceral dan kerusakannya secara histopatologis, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 18.

Tabel 18. Persentase Berat Organ Visceral

Perlakuan	Persentase Berat Organ Visceral (berat organ/bobot akhir x 100%)					
	Timus	Hati	Limfa	Pankreas	Usus Halus	Bursa
T0	0,42 ± 0,15 ^a	2,47 ± 0,28 ^a	0,16 ± 0,02 ^{ab}	0,30 ± 0,05 ^a	4,27 ± 0,64 ^a	0,09 ± 0,03 ^{ab}
T1	0,51 ± 0,05 ^a	2,43 ± 0,25 ^a	0,19 ± 0,07 ^b	0,29 ± 0,05 ^a	4,68 ± 0,40 ^a	0,07 ± 0,01 ^{ab}
T2	0,54 ± 0,19 ^a	2,37 ± 0,07 ^a	0,13 ± 0,03 ^a	0,31 ± 0,07 ^a	4,58 ± 0,33 ^a	0,05 ± 0,01 ^a
T3	0,50 ± 0,16 ^a	2,46 ± 0,11 ^a	0,12 ± 0,02 ^a	0,29 ± 0,04 ^a	4,65 ± 0,80 ^a	0,12 ± 0,08 ^b
T4	0,51 ± 0,21 ^a	2,60 ± 0,23 ^a	0,15 ± 0,04 ^{ab}	0,28 ± 0,03 ^a	4,51 ± 0,67 ^a	0,06 ± 0,02 ^{ab}

Catatan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%. Huruf ab berarti tidak ada perbedaan berat limfa antara T0, T4 dengan T2 dan T3, tidak ada perbedaan berat bursa antara T0, T1. T4 dengan T2.

Keterangan : T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%)

Berdasarkan Tabel 18., penambahan ekstrak *Z. zerumbet* 0,33% sampai dengan 1% pada broiler yang diinfeksi *S. enteritidis* dosis 10¹⁰ CPU tidak mempengaruhi berat organ timus, hati, pankreas dan usus halus, hal ini membuktikan

terdapat peran fitobiotik dalam ekstrak *Z. zerumbet* sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan imunomodulator, sehingga bisa mempertahankan berat organ-organ tersebut pada broiler penderita Salmonellosis. Berat limfa tertinggi dicapai oleh T1, karena dosis infeksi *S. enteritidis* adalah dosis vaksinasi, sehingga berpotensi merangsang timbulnya antibodi, berat limfa pada T4, T3, T2 tidak berbeda dengan yang dicapai T0.

Tidak ada perbedaan berat bursa pada T0, T1, dan T4, berat bursa terendah terjadi pada T2, yang artinya penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebesar 0,33% belum mampu mengatasi infeksi *S. enteritidis*, sehingga bakteri bisa mencapai dan bereplikasi dalam bursa, lewat sistem limfe. Invasi bakteri patogen mempengaruhi sistem humoral organ limfoid, termasuk bursa Fabricius, sehingga bisa menyebabkan immunosupressif, yang ditandai dengan penurunan berat bursa fabricius (Gomes *et al.*, 2014). Gangguan apa pun dalam pengembangan bursa Fabricius yang disebabkan oleh stresor dapat mengakibatkan defisiensi signifikan pada fungsi sistem kekebalan tubuh ayam (Oznurlu *et al.*, 2010). Quinteiro-Filho *et al.* (2010) juga mengamati bahwa stres panas menyebabkan penurunan berat bursa Fabricius, mengurangi produksi antibodi pada ayam muda. Mekanisme ketergantungan glukokortikoid selama stres dilaporkan menyebabkan involusi organ limfoid.

Bursa Fabricius merupakan organ limfoid primer, memainkan peran penting dalam produksi immune, IgM, IgG dan IgA, sel limfosit T maupun B (Akbarian *et al.*, 2013; Baratawidjaja dan Rengganis, 2010). Perlakuan T3, penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebesar 0,67% mengindikasikan bursa yang paling aktif memproduksi immune, karena memberikan berat bursa tertinggi dibandingkan perlakuan lain maupun kontrol.

Dilaporkan pula bahwa penggunaan bubuk biji hitam (*Nigella sativa*) sebagai aditif pakan secara signifikan meningkatkan ukuran timus dan bursa Fabricius (Shewita dan Taha, 2011), juga meningkatkan titer antibodi terhadap *Sheep Red Blood Cells* (SRBC) (Shokrollahi dan Sharifi, 2018), tetapi Mufarrez (2014) tidak menemukan perbedaan signifikan dalam ukuran organ limfoid pada ayam broiler. Hasil-hasil penelitian menunjukkan penggunaan probiotik dan ekstrak herbal sebagai *feed additive* pada umumnya bisa meningkatkan immune pada broiler (Zuhra *et al.*, 2018). Semakin tinggi berat organ limfoid pada anak ayam yang menerima *Nigella*

sativa dapat dikaitkan dengan efek positif komponen aktif *Nigella sativa* yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri dan anti-inflamasi (Shewita dan Taha, 2011).

3. Tampilan Produksi Ayam Broiler

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian serbuk ekstrak *Z. zerumbet* pada pakan tidak mempengaruhi tampilan produksi ayam broiler, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 19.

Tabel 19. Tampilan Produksi Ayam Broiler

Perlakuan	Data Performa Produksi				
	Konsumsi Pakan (gram/ekor/hari)	Konversi Pakan	Pertambahan Bobot Badan (gram/ekor/hari)	Bobot Akhir (gram)	Persentase Karkas (%)
T0	72,17 ± 5,34 ^a	1,89 ± 0,12 ^a	38,30 ± 3,85 ^a	1380,50 ± 134,90 ^a	65.60 ± 1.30 ^a
T1	71,51 ± 3,62 ^a	1,89 ± 0,11 ^a	37,91 ± 1,20 ^a	1374,40 ± 47,98 ^a	68.48 ± 8.37 ^a
T2	71,72 ± 4,20 ^a	1,96 ± 0,10 ^a	36,50 ± 0,70 ^a	1316,80 ± 24,81 ^a	63.70 ± 4.53 ^a
T3	69,38 ± 4,43 ^a	1,93 ± 0,12 ^a	35,91 ± 2,22 ^a	1297,30 ± 77,59 ^a	64.74 ± 0.72 ^a
T4	72,71 ± 4,92 ^a	2,04 ± 0,10 ^a	35,67 ± 1,40 ^a	1287,80 ± 49,97 ^a	60.90 ± 3.47 ^a

Catatan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan dalam Uji Duncan 5%.

Keterangan: T0 (pakan standar/kontrol negatif) , T1 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* /kontrol positif), T2 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,33%), T3 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 0,67%), T4 (pakan standar + infeksi *S. enteritidis* + ekstrak *Z. zerumbet* 1%).

Berdasarkan Tabel 19, penambahan ekstrak *Z. zerumbet* tidak berpengaruh terhadap tampilan produksi (konsumsi pakan, konversi, PBBH, bobot akhir dan persentase karkas), disebabkan karena dosis infeksi *S. enteritidis* (10^{10} CFU/ml) yang diberikan merupakan dosis vaksinasi sehingga justru terjadi peningkatan mekanisme pertahanan tubuh pada perlakuan T1 yang menyebabkan tampilan produksi tidak berbeda dengan kelompok kontrol (T0). Hal ini disebabkan dosis infeksi *S. enteritidis* yang mengandung 10^{10} CFU/ml bakteri sesuai dengan dosis vaksinasi, sehingga terjadi peningkatan sistem kekebalan tubuh ayam.

Kandungan senyawa kurkumin dan minyak atsiri dalam ekstrak *Z. zerumbet* (T2, T3 dan T4) mampu mengatasi infeksi *S. enteritidis* (T1), karena fitobiotik tersebut bekerja optimal dalam merangsang sekresi empedu dan pankreas untuk mencerna karbohidrat, lemak, dan protein, sehingga konsumsi pakan maupun tampilan produksi yang lain tetap dipertahankan secara normal. Hasil penelitian

sebelumnya yang dilakukan pada broiler tanpa perlakuan infeksi bakteri menunjukkan kurkumin dalam ekstrak *Z. zerumbet* dapat meningkatkan sekresi empedu dan pankreas, sehingga meningkatkan konsumsi pakan (Dai *et al.*, 2014; Muiz, 2016).

Minyak atsiri dalam *Z. zerumbet* meningkatkan kinerja pencernaan, mampu merelaksasi usus halus dengan mengurangi gerakan peristaltik usus halus sehingga ingesta lebih lama tinggal dalam usus halus dan proses absorpsi nutrisi berlangsung secara maksimal (Widodo *et al.*, 2017, Irianto *et al.*, 2014). Flavonoid, terpenoid dan saponin bersifat antibakteri yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen sehingga penyerapan nutrisi lebih baik selanjutnya terjadi peningkatan pertumbuhan dan bobot akhir ayam potong (Nasution *et al.*, 2014, Habibah *et al.*, 2012). Senyawa dalam *Z. zerumbet*, antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, fenol, polifenol, terpenoid dan minyak atsiri bersifat antibakteri dan anti inflamasi (Chang *et al.*, 2012; Manullang *et al.*, 2015, Nasution *et al.*, 2014, Darsana *et al.*, 2012), sehingga bisa menghambat *S. enteritidis* yang diinfeksi dan mengatasi radang yang dihasilkan.

Kandungan nutrisi pakan, antara lain : ME, PK, LK, SK, Ca dan P pada ayam percobaan memenuhi kebutuhan ayam dan memiliki kisaran yang sama antar perlakuan, sehingga pencapaian tampilan produksi, tidak berbeda antar perlakuan. Kandungan LK, SK, protein dan ME dalam pakan sesuai standar, sebagaimana dinyatakan bahwa kebutuhan LK dalam pakan ayam broiler maksimal 8,0 persen, SK maksimal 6,0 persen, protein masa *starter* 23 persen dan *finisher* 20 persen, energi 3200 kal/gram (Ketaren, 2010).

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penambahan ekstrak etanol *Z. zerumbet* telah terbukti mempengaruhi performa dan kesehatan ayam penderita Salmonellosis berdasarkan berbagai gambaran parameter uji, sebagai berikut:

1. Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri secara in vitro, terbukti bahwa:
 - a) Konsentrasi etanol 95% sebagai pelarut dan konsentrasi ekstrak 10% dari *Z. zerumbet* memberikan aktivitas antibakteri yang tertinggi terhadap pertumbuhan *Salmonella spp.*, dengan sensitifitas *S. enteritidis* terhadap ekstrak lebih tinggi daripada *S. typhimurium*
 - b) Ekstrak *Z. zerumbet* memberikan zona hambat tertinggi terhadap *S. typhimurium* pada konsentrasi etanol 45% dan konsentrasi ekstrak 7,5%.
2. Berdasarkan pengujian parameter spesifik maupun non spesifik, maka dapat dibuktikan bahwa:
 - a) Karakterisasi ekstrak *Z. zerumbet* berdasarkan total abu, kandungan abu tidak larut asam, BJ, total cemaran bakteri, kapang dan logam, maka ekstrak telah memenuhi persyaratan BPOM RI (2006).
 - b) Ekstrak *Z. zerumbet* memiliki kandungan senyawa yang mampu menghambat *Salmonella spp*, yaitu alkaloid, tannin, terpenoid, flavonoid, dan EOs yang terdiri atas monoterpenoid dan seskuiterpenoid, terutama zerumbon dengan kelimpahan tertinggi, yaitu 43,14%.
3. Berdasarkan percobaan in vivo, terdapat bukti-bukti yang menunjukkan bahwa ekstrak *Z. zerumbet* memiliki potensi sebagai *feed additive* PGP untuk pengendalian Salmonellosis guna perbaikan performa dan kesehatan ayam broiler, yaitu :
 - a) Ekstrak *Z. zerumbet* mampu memperbaiki kesehatan intestinum broiler penderita Salmonellosis, pada level 0,67% sampai 1% memiliki efikasi tertinggi dan pada level 0,33% sampai 1% berhasil memperbaiki kerusakan usus halus dan gangguan aktivitas enzim pencernaan broiler penderita Salmonellosis.
 - b) Ekstrak *Z. zerumbet* sanggup mempertahankan biokimia serum tetap normal pada broiler penderita Salmonellosis, yaitu pada level 0,67% berpotensi terbaik sebagai

immunomodulator, pada level 0,33% sebagai hepatoprotektif, dan pada level 0,33% sampai 1% mampu mempertahankan profil lipid serum tetap normal.

- c) Ekstrak *Z. zerumbet* berhasil mempertahankan performa broiler penderita Salmonellosis, yaitu pada level 0,33% sampai 1% berpotensi mempertahankan pencernaan gizi dan tampilan produksi tetap normal serta pada level 0,67% memiliki respon imun yang tertinggi.

B. Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut dengan dosis infeksi *S. enteritidis* yang lebih tinggi dari 10^{10} CFU/ekor untuk memperoleh respon performa dan kesehatan yang lebih nyata dari penambahan ekstrak *Z. zerumbet* sebagai *feed additive* dalam pengendalian Salmonellosis pada ayam broiler.
2. Perlu dianalisis lebih lanjut konsentrasi kandungan masing-masing dari fitobiotik alkaloid, tannin, terpenoid, flavonoid, dan zerumbon dalam ekstrak etanol 95 persen dari *Z. zerumbet* dengan konsentrasi ekstrak 10 persen untuk menjamin keamanan ekstrak sebagai *feed additive* pada pakan ayam broiler.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AHH, Pillai S. 2011. *Cellular and Molecular Immunology*. Ed ke-7. Philadelphia (US): Elsevier Health Sciences.
- Abulreesh, H.H. 2012. “*Salmonellae* in the Environment”, in *Salmonella* Distribution, Adaptation, Control Measures and Molecular Technologies. B. Annous and J.B.Gurtler, Eds., pp.19–50, InTech. 2012.
- Aiello, Susan E. 2012. The Merck etinary manual. USA: Merck Sharp & Dohme Corp.
- Akbarian, A., Golian, A., Kermanshahi, H., Farhoosh, R., Raji, A. R., De Smet, S., & Michiels, J. (2013). Growth Performance And Gut Health Parameters of Finishing Broilers Supplemented With Plant Extracts And Exposed To Daily Increased Temperature. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1), 109–119. <https://doi.org/10.5424/sjar/2013111-3392>.
- Ameh GI, Eze SC, Omeje FU (2013). Phytobiotic Screening and Antimicrobial Studies on the Methanolic Bulb Extract of *Allium Sativum* L. *Afr. J. Biotechnol.* 12(14):1665-1668
- Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, And Virulence Differences Among Serovars. *Scientific World Journal*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
- Arfah NH. 2015. The Effect of Turmeric Powder Supplement in Feed on Erythrocyte, Hemoglobin, PCV, and Leukocyte of Broiler Chickens. Universitas Hasannudin Makasar. Makasar.
- Ariyanti, T. dan Supar. 2008. Antigenisitas dan Immunogenisitas *Salmonella enteridis* : Implikasi dalam Diagnosis dan Pengembangan Vaksin Isolat Lokal Untuk Unggas. *Wartazoa* 18(4), pp.187-197.
- Artha, C., Mustika, A., & Sulistyawati, S. W. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Singawalang terhadap Kadar LDL Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia (Singawalang Leaf Extract Effects on LDL Levels of Hypercholesterolemic Male Rats). *eJKI*. Vol. 5(2), pp.105–109.
- Baratawidjaja, K.G., dan Rengganis, I., 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi Ke-9. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Balai Penerbit FKUI, Jakarta. ISBN 978-979-496-699-0.
- Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential Oils In Combination And Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, 17(4), 3989–4006. <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>

- Basri, D. F., Nishibuchi, M., Nakaguchi, Y., Radu, S., Mahyudin, N. A., Wan Mohamed Radzi, C. W. J., & Thung, T. Y. (2016). Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in Raw Chicken Meat At Retail Markets in Malaysia. *Poultry Science*, 1–6. <https://doi.org/10.3382/ps/pew144>.
- Boguslawska-Tryk, M., A. Piotrowska, and K. Burlikowska. 2012. Dietary Fructans and Their Potential Beneficial Influence on Health and Performance Parametrs in Broiler Chickens. *J. Cent. Euro. Agri.* 13:272–291.
- BPOM RI.2006. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 2. Jakarta. Direktorat Standarisasi Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen.
- Brown, A. C., Grass, J. E., Richardson, L. C., Nisler, A. L., Bicknese, A. S., & Gould, L. H. (2017). Antimicrobial Resistance In Salmonella That Caused Foodborne Disease Outbreaks: United States, 2003-2012. *Epidemiology and Infection*, 145(4), 766–774. <https://doi.org/10.1017/S0950268816002867>
- Canogullari, S., Baylan, M., Erdogan, Z., Duzguner, V., & Kucukgul, A. (2010). The Effects of Dietary Garlic Powder on Performance, Egg Yolk and Serum Cholesterol Concentrations in Laying Quails. *Czech Journal Animal Science* , 286-293.
- Chang, C.J., Tzeng, T., Liou, S., Chang, Y., Liu, I., 2012. Acute and 28-Day Subchronicoral Toxicity of An Ethanol Extract of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith In Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2012, Article ID 608284, 11 pages.
- Chiroma, M. A., Adamu, S., Gadzama, J. J., Esievo, K. A. N., Abdulsalam, H., Balami, A. G., Atata, A. J. (2017). Some Plasma Biochemical Changes In Layers Experimentally Infected with *Salmonella gallinarum*. *African Journal of Cellular Pathology*, 9(2), 66–72. <https://doi.org/10.5897/ajcpath2018.0010>
- Chukwu, G. C., & Adeolu, A. I. (2014). Effect of Ground Ginger and Garlic on the Growth Performance, Carcass Quality and Economics of Production of Broiler Chickens, 3(3), 225–229.
- Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber SL, Duke JA, Brielmann HL. 2006. Natural Product from Plants. Second Edition. CRC Press Taylor & Francis Group.
- Dai DN, Tran DT, Le TMC, Isiaka AU. 2013. Chemical Constituents of the Root Essential Oils of *Zingiber rubens* Roxb. And *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. *Am. J. Plant Sci.* 4: 7-10. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.41002>
- Daneshmand, A., Sadeghi, G., & Karimi, A. (2012). The Effects of a Combination of Garlic, Oyster Mushroom and Propolis Extract in Comparison to Antibiotics on Growth Performance, Some Blood Parameters and Nutrients Digestibility of Male Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* , 73-158.

- Darsana I G O, Besung I N K, dan Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara in Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3) 337 – 351
- Dash, S., Ray, M., Mishra, A., Shahbazi, S., K, G. A., Nayak, S., & Singh, S. (2017). Zerumbone, a Natural Plant Dietary Compound Induces Expression of Interleukin-12P70 Cytokine in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(9), 312. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9s3.13584>.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Edisi I. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta.
- Diaz-Sanchez, S., D'Souza, D., Biswas, D., & Hanning, I. (2015). Botanical Alternatives to Antibiotics For Use in Organic Poultry Production. *Poultry Science*, 1-12.
- Djaelani, MA dan Tana, S. 2015. Pemberian The Kombucha Pada Air Minum Terhadap Nilai LDL Kolesterol dan HDL Kolesterol Darah Ayam Broiler (*Gallus sp*). Buletin Anatomi dan Fisiologi. Volume XXIII, Nomor 2. Hal: 72-78.
- Ekananda N. 2015. Bay Leaf in Dyslipidemia Therapy. Diunduh dari <http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/viewFile/580/584>
- Elazomi, A., Rahman, M. E. A., Liddell, S., Lovell, M., & Barrow, P. (2016). Determination of the Proteins of *Salmonella enteritidis* Involved in Colonization of the Chicken Ceca Using. *Protein Analysis*, (5), 1729–1738.
- El-katcha, M. I., Soltan, M. A., SHaraf, M. M., & Hasen, A. (2016). Growth Performance, Immune Response, Blood Serum Parameters, Nutrient Digestibility and Carcass Traits of Broiler Chicken as Affected by Dietary Supplementation of Garlic Extract (Allicin). *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 50-64.
- Eltazi, S. M., Mohamed, K., & M.A, M. (2014). Effect of Using Garlic Powder As Natural Feed Additive on Performance and Carcass Quality of Broiler Chicks. *Assiut Vet. Med. J.*, 45-53.
- Emma WMSM, Sjofan O, Widodo E, Achmanu. 2013. *Jurnal Veteriner*. Vol. 14 No. 1: 105-110. ISSN: 1411 – 8327.
- Etha, Hasiib, A., Riyanti, Hartono, M. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Air Minum Terhadap Performa Broiler. Department of Animal Husbandry Faculty of Agriculture Lampung University. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* Vol. 3(1): 14-22.

- Fakhim, R.; Ebrahimnezhad, Y.; Seyedbadi, H. R.; and Vahdatpour, T., 2013. Effect of Different Soybean Meal Based Diets. *J. of Bioscience and Biotechnology*, 2: 95-99
- Fallah, R. (2015). Effect of Adding Aloe Vera Gel & Garlic Powder on Performance & Liver Functions of Broiler Chickens. *Global Journal of Animal Scientific Research* , 491-496.
- Febriyati. 2010. Analisis Komponen Kimia Fraksi Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piper bettle linn*) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Gram Positif. Skripsi. Program Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Feng, J. C., Wang, L. H., Zhou, L. X., Yang, X., and Zhao, X. (2016). Using In Vitro Immunomodulatory Properties of Lactic Acid Bacteria for Selection of Probiotics against *Salmonella* Infection in Broiler Chicks. PLoS ONE 11:e0147630.doi: 10.1371/journal.pone.0147630
- Fleck, J. D., Betti, A. H., Pereira, F., Troian, E. A., Olivaro, C., Ferreira, F., & Verza, S. G. 2019. Biological Activities. <https://doi.org/10.3390/molecules24010171>
- Ganapathy, G., & Nair, A. R. (2017). Curcuminoids in *Zingiber zerumbet* Rhizomes: Bioguided Fractionation and Chromatographic Identification of Antimicrobial and Antioxidant Metabolites. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 23(2), 169–181. <https://doi.org/10.1080/10496475.2017.1283555>
- Gast, R. K., Guraya, R., Jones, D. R., Anderson, K. E., & Karcher, D. M. (2017). Frequency And Duration Of Fecal Shedding Of *Salmonella enteritidis* By Experimentally Infected Laying Hens Housed In Enriched Colony Cages At Different Stocking Densities. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(APR), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00047>
- Ghasemzadeh A, Nasiri A, Jaafar HZ, Baghdadi A, Ahmad I. 2014. Changes in Phytobiotic Synthesis, Chalcone Synthase Activity and Pharmaceutical Qualities of Sabah Snake Grass (*Clinacanthus nutans* L.) In Relation To Plant Age. *Molecules*. Vol 19(11):17632–48.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., Ashkani, S., Rahmat, A., Juraimi, A. S., Puteh, A., & Muda Mohamed, M. T. (2016). Variation In Secondary Metabolite Production As Well As Antioxidant And Antibacterial Activities Of *Zingiber zerumbet* (L.) At Different Stages Of Growth. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1072-6>
- Golam M, Rowshanul M, Mohammad A, Mukhlesur M. 2010. Zederone From The Rhizomes Of *Zingiber Zerumbet* And Its Anti-Staphylococcal Activity. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9 (1): 63-68.

- Gomes, A. V. S., Quinteiro-Filho, W. M., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M. L., Baskeville, E., Palermo-Neto, J. (2014). Overcrowding Stress Decreases Macrophage Activity And Increases *Salmonella enteritidis* Invasion In Broiler Chickens. *Avian Pathology*, 43(1), 82–90. <https://doi.org/10.1080/03079457.2013.874006>
- Goodarzi, M., & Nanekarani, S. (2014). Effect of Onion Extract in Drink Water on Performance and Carcass Traits in Broiler Chickens. *International Conference on Agricultural and Biosystem Engineering* (pp. 107-112). IERI Procedia.
- Habibah, A. S., Abun, Wiradimadja, R. 2012. Performan Ayam Broiler yang Diberi Ransum Mengandung Ekstrak Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa* (Jack) Prain). Fakultas Peternakan. Universitas Padjadjaran. Sumedang.
- Habibi, R.; Sadeghi, G. H.; and Karimi, A., 2014. Effect of Different Concentrations of Ginger Root Powder and Its Essential Oil on Growth Performance, Serum Metabolites and Antioxidant Status In Broiler Chicks Under Heat Stress. *Br. Poult. Sci.* 55: 228-237.
- Hanani E. 2014. Analisis Fitobiotik. Penerbit Buku Kedokteran -EGC.
- Hartoyo B, S Suhermiyati, N Iriyanti, and E Susanti. 2015. Performance and Hematology Profiles of Broiler Chickens with Herbal Supplement (Fermenherfit). In Proceedings of National Seminar Livestock Technology and Agribusiness. (3 rd Series): Livestock Development based on Local Resources in Facing ASEAN Economic Community (MEA). Faculty of Animal Science. Jenderal Soedirman Univeristy. Purwokerto.
- Harborne, J. B., 2006. Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua. Cetakan Keempat. Penerbit ITB. Bandung. Hal: 6-9.
- Has, H., Napirah, A., dan Indi, A. 2014. Efek Peningkatan Serat Kasar dengan Penggunaan Daun Murbei dalam Ransum Broiler Terhadap Persentase Bobot Saluran Pencernaan. *Jitro*. Vol 1. No.1, September 2014. Hal 63-69.
- Hasanuddin, V. D. Yunianto dan Tristiarti. 2013. Profil Lemak Darah pada Ayam Broiler yang Diberi Pakan *StepDown* Protein dengan Penambahan Air Perasan Jeruk Nipis sebagai *Acidifer*. (Blood Lipid Profile of Broiler Chickens Fed a *Step Down* Protein with Addition of Lime Juice as an *Acidifier*). *JITP* Vol. 3 No.1. Hal, 11-17
- Hasheimi, S. R., Zulkifli, I., Somchit, M. N., Zunita, Z., Loh, T. C., Soleimani, A. F., & Tang, S. C. (2013). Dietary Supplementation of *Zingiber Officinale* And *Zingiber Zerumbet* To Heat-Stressed Broiler Chickens and its Effect on Heat Shock Protein 70 Expression, Blood Parameters and Body Temperature.

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 97(4), 632–638.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01302.x>

- Hashemi, S. R. dan Davoodi, H. 2011. Herbal Plants and Their Derivatives as Growth and Healthpromoters in Animal Nutrition. *Vet Res Commun* (2011) 35: 169 – 180. DOI 10.1007/S11259-010-9458-2.
- Hashemi, S. R., dan Davoodi, H. 2010. Phytobiotics as New Class of Feed Additive in Poultry Industry. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9(17):2295-2304. ISSN: 1680-5593.
- Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., & Wang, Y. (2018). Potential And Challenges of Tannins as An Alternative To In-Feed Antibiotics For Farm Animal Production. *Animal Nutrition*, 4(2), 137–150.
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.004>
- Hu, J. L., Yu, H., Raveendra, R. K., Shayan, S., Steve, W. C., Xie, M. Y., et al. (2015). Modulation Of cytokine Gene Expression By Selected Lactobacillus Isolates In The Ileum, Caecal Tonsils And Spleen Of salmonella-Challenged Broilers. *Avian Pathol.* 44, 463–469. Doi: 10.1080/03079457.2015.1086725
- Ibrahim, W.A. & El-ghany, W.A.A., 2014. Short Communication A Comparative Study on The Use of Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) And Standard Isolation Techniques For The Detection Of Salmonellae In Broiler Chicks. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2(1), pp.67–71. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.11.001>.
- Irianto, A.B, U. Atmomarsono, dan E. Suprijatna. 2014. Pengaruh Penambahan Tepung Jahe Merah (*Zingiber Officinale Var. Rubrum*) dalam Ransum Terhadap Efisiensi Penggunaan Protein Pada Ayam Kampung Periode Pertumbuhan (16-22 minggu). *Animal agriculture Journal* 3(1) 61-69.
- Issa, K. J., & Omar, J. M. (2012). Effect of Garlic Powder on Performance and Lipid Profile of Broilers. *Open Journal of Animal Sciences* , 2 (2), 62-68.
- Jacob, J., dan Pescatore, T. 2013. Avian Digestive System. *Animal Sciences*. University of Kentucky College of Agriculture.
- Julianto, T. S. (2019). Fitobiotik Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining. Cetakan I. Penerbit Universitas Islam Indonesia.
- Juarijah, S., Suryantono, D., dan Jamilah, I. 2014. Aktivitas Anti Bakteri Spesies *Asterias Forbesii* Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen. *Berkala Perikanan Terubuk*, 42(2): 37-50.
- Kader, G., Nikkon, F., Rashid, M. A., and Yeasmin, T. 2011. Antimicrobial Activities of the Rhizome Extract of *Zingiber zerumbet* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 409-412.

- Kapitan, O. B., Ambarsari, L., & Falah, S. (2018). In Vitro Antibakteri Ekstrak Etanol Puni (*Zingiber zerumbet*) Asal Pulau Timor. *Savana Cendana*, 2(02), 29–32. <https://doi.org/10.32938/sc.v2i02.82>.
- Ketaren P P 2010. Kebutuhan Gizi Ternak Unggas Di Indonesia. Balai Penelitian Ternak Bogor. *Wartazoa* 20(4) 172-180.
- Khatun, R., Howlader, M. A., Islam, M. N., Alam, M. K., Mahmud, M. S., & Rahman, M. H. (2015). Exploration the Causes of Infectious Illness and Detection of Antibiotic Residues in Warehouse Poultry. *American Journal of Food Science and Health*, 1 (2), 57-62.
- Koga, A. Y., Beltrame, F. L., & Pereira, A. V. (2016). Several Aspects of *Zingiber zerumbet*: A review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(3), 385–391. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.006>
- Kumar, S. C., Srinivas, P., Negi, P. S., & Bettadaiah, B. K. (2013). Antibacterial and Antimutagenic Activities of Novel Zerumbone Analogues. *Food Chemistry*, 141(2), 1097–1103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.021>
- Lajuck P. 2012. Ekstrak Daun Salam Lebih Efektif Menurunkan Kadar Kolesterol Total dan LDL Dibandingkan Statin Pada Penderita Dislipidemia [tesis]. Denpasar: Universitas Udayana.
- Li, P., Xia, P. G., Wen, J., Zheng, M. Q., Chen, J. L., Zhao, J. P., (2010). Up-Regulation of the Myd88-Dependent Pathway of TLR Signaling In Spleen And Caecum Of young Chickens Infected With *Salmonella* Serovar Pullorum. *Vet. Microbiol.* 143, 346–351. Doi: 10.1016/j.vetmic.2009.12.008
- Li, Q., Hu, Y., Chen, J., Liu, Z., Han, J., Sun, L., & Jiao, X. (2013). Identification of *Salmonella enterica* Serovar Pullorum Antigenic Determinants Expressed In Vivo, 81(9), 3119–3127. <https://doi.org/10.1128/IAI.00145-13>
- Liu XL, Hao YQ, Jin L, Xu ZJ, McAllister TA, Wang Y. 2013. Anti-*Escherichia coli* O157: H7 Properties of Purple Prairie Clover and Sainfoin Condensed Tannins. *Molecules* 18:2183-2199.
- Mannan, A., Chand, N., Khan, S., Qureshi, M. S., & Jan, B. (2012). Effect of Periodic Supplementation of Herbal Infusion On The Liver Function and Lipid Profile of Broiler Chickens. *Sarhad J Agric.* Vol. 28(1).pp 76-82
- Manullang J R, dan Ardhani F 2015 Efektifitas Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) Sebagai Additif Pakan Dan Antimikrobia Terhadap Pertumbuhan Bakteri Anaerob Dan Coliform Secara In Vivo Pada Ayam Pedaging. *Jurnal Peternakan Indonesia* 17(3) 195-199

- Marbun, EMA dan Restuati, M. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume) Sebagai Antiinflamasi Pada Edema Kaki Tikus Putih (*Rattus novergicus*). *Jurnal Biosains* Vol. 1 No. 3. Hal: 107-112.
- Marian H. Ghaly, Ashraf A. Elghoneimy, Hussein K. Mohamed, M. F. A. (2017). Biochemical and Histopathological Effects of Dietary Supplementation of *Nigella sativa* and *Mentha piperita* Oils to Broilers. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 7(1), 7–15.
- McDonald, D., Ackermann, G., Khailova, L., Baird, C., Heyland, D., Kozar, R., (2016). Extreme Dysbiosis of the Microbiome in Critical Illness. *Sphere* 1:e199–e216. DOI: 10.1128/mSphere.00199-16
- Miraghace, S.S., Heidary, B., Almasi, H., Shabani, A., Elahi, M., Modaber Nia, M.H., 2011. The Effects of *Nigella sativa* Powder (Black Seed) And *Echinacea purpurea* (L.) Moench Extract on Performance, Some Blood Biochemical and Hematological Parameters in Broiler Chickens. *African Journal of Biotechnology*, 19249-19254.
- Mirnawati, B. Sukanto, dan V. D. Yunianto. 2013. Kecernaan Protein, Retensi Nitrogen Dan Massa Protein Daging Ayam Broiler Yang Diberi Ransum Daun Murbei (*Morus alba* L.) Yang Difermentasi Dengan Cairan Rumen. *JITP*, 3(1): 25-32.
- Mufarrez SIA (2014). Immune-Responsiveness and Performance of Broiler Chickens Fed Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Powder. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 13:75-80.
- Muiz. A. 2016. Pengaruh Penggunaan Tepung Daun Binahong (*Andrographis cordifolia*) (Ten) (Stennis) Sebagai Feed Additive Terhadap Kualitas Karkas Ayam Pedaging. Program Studi Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Tadulako. *J. Agrisains* 17 (1): 54 – 61. ISSN: 1412-3657.
- Muna, E., Salih, M., Zakia, A., Halima, M., Abeer, A., Ameera, M., Idris, S. (2016). Pathology of Broiler Chicks Naturally Infected with *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) & *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) During an Outbreak in Sudan. *Journal of Scientific Research and Reports*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.9734/jsrr/2016/23431>
- Munyaka, P. M., H. Echeverry, A. Yitbarek, G. Camelo-Jaimes, S. Sharif, W. Guenter, J. D. House, and J. C. Rodriguez-Lecompte. 2012. Local And Systemic Innate Immunity In Broiler Chickens Supplemented With Yeast-Derived Carbohydrates. *Poult Sci* 91:2164– 2172
- Murni SW, Kholisoh DS, Tanti DI, Petrisia EM. 2011. Produksi, Karakterisasi, Dan Isolasi Lipase Dari *Aspergillus niger*. Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumberdaya Alam Indonesia. ISSN 1693-4393

- Murwani, R. 2010. Broiler Modern. Semarang (ID): Widya Karya: 2-16
- Nagappan, T., P. Ramasamy, M.E.A. Wahid, T.C. Segaran, and C.S. Vairappan. 2011. Biological Activity of Carbazole Alkaloids and Essential Oil of *Murraya koenigii* Against Antibiotic Resistant Microbes and Cancer Cell Lines. *J Molecules*. (16):9651-9664.
- Nasution, R A P, Atmomarsono U, and Sarengat W. 2014. Influence of Katuk (*Sauropus Andogynus*) Leaf Powder in the Diet of Broileron Performance. *Animal Agriculture Journal* 3(2) 334-340
- Netala, V. R., Ghosh, S. B., Bobbu, P., Anitha, D., & Tartte, V. (2015). Triterpenoid Saponins: A Review on Biosynthesis, Applications And Mechanism of Their Action. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 24–28.
- Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono. (2016). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3), 231–236.
- Nugroho A. 2017. Teknologi Bahan Alam. Lambung Mangkurat University Press, Banjarmasin.
- Nuria, M. C., Wahyono, & Susidarti, R. A. (2011). Isolasi Dan Identifikasi Kaempferol dari Daun Jangkang (*Homalocladium platycladum* (F . Muell) Bailey) Serta Aktivitas Antibakterinya Isolation and Identification of Kaempferol from Jangkang. *Majalah Farmasi Indonesia*, 22(1), 1–8.
- Onu, P. (2010). Evaluation of Two Fitobiotik Spices as Feed. *Biotechnology in Animal Husbandry* , 383-392.
- Onyimonyi, A. E., & Omeje, M. U. (2013). Bioevaluation of Garlic on Growth, Haematological and Serum Characteristics of Growing Pigs. *African Journal of Biotechnology* , 4039-4043.
- Onyimonyi, A. E., Chukwuma, P., & Igbokwe, C. (2012). Growth and Hypocholesterolemic Properties of Dry Garlic powder (*Allium sativum*) on Broilers. *African Journal of Biotechnology* , 2666-2671.
- Oznurlu Y, Celik I, Telatar T, Sur E, 2010. Histochemical and Histological Evaluations Of The Effects Of High Incu-` Bation Temperature On Embryonic Development Of Thymus And Bursa Of Fabricius In Broiler Chickens. *Br Poult Sci* 51: 43-51.
- Panagiota, G., Vangelis, E., Petros, B., & Chrissanthy, P. (2015). Vancomycin-Resistance Phenotypes, Vancomycin-Resistance Genes, and Resistance to

Antibiotics of Enterococci Isolated from Food of Animal Origin. *Foodborne Pathogens and Disease* , 12 (3), 214-220.

- Pasril, Y. and Yuliasanti, A. 2014. Anti-Bacterial Power of Red Batel Leaves (*Piper Crocatum*) to *Enterococcus Faecalis* Bacteria as Medikamen Material for Canal Root by Dilution Method. (Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar dengan Metode Dilusi). *IDJ*, Vol.3 No. 1 Bulan Mei Tahun 2014.
- Pavic, A., Groves, P. J., & Cox, J. M. (2012). Through Vaccination and Prophylactic, (March). <https://doi.org/10.5772/29630>
- Porter, R. (2012). Digestive Enzyme Activity in the Chicken Digestive Anatomy of Gallinaceous Birds, (March), 1–15.
- Pourali, M., Kermanshahi, H., Golian, A., Razmi, G. R., & Soukhtanloo, M. (2013). Antioxidant and Anticoccidial Effects of Garlic Powder and Sulfur Amino Acids on *Eimeria*-infected and Uninfected Broiler Chickens. *Iranian Journal of Veterinary Research* , 227-232.
- Pratidina, W. 2010. *Nilai Retensi Nitrogen Dan Energi Metabolisme Ransum Mengandung Tepung Umbi Teratai Pada Ayam Arab*. (Skripsi). Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Priya ES, Selvakumar K, Bavithra S, Elumalai P, Arunkumar R, Singh PR, Mercy AB, Arunakaran J. 2014. Anti-Cancer Activity of Quercetin in Neuroblastoma: An In Vitro Approach. *Neurol Sci*. Vol. 35(2):163–70.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2016. Outlook Daging Ayam Komoditas Pertanian Subsektor Peternakan. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Peternakan. ISSN 1907-1507
- Puspitasari, Sudrajat, dan Kusumawati, E. 2015. Efek Penghambatan Infusa Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) Terhadap Angka Cemar Bakteri pada Daging Ayam Segar. *Journal Science East Borneo*, 3(3): 17-21.
- Puvaca, N., Kostadinovic, L., Ljubojevic, D., Lukac, D., Levic, J., Popovic, S., Duragic, O. (2015). Effect Of Garlic, Black Pepper And Hot Red Pepper On Productive Performances And Blood Lipid Profile Of Broiler Chickens. *European Poultry Science*, 79, no. <https://doi.org/10.1399/eps.2015.73>
- Quinteiro-Filho WM, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Sakai M, Sá LR, Ferreira AJ, Palermo-Neto J, 2010. Heat Stress Impairs Performance Parameters, Induces Intestinal Injury, And Decreases Macrophage Activity In Broiler Chickens. *Poult Sci* 89: 1905-1914.

- Rafiee, A.; Rahimian, Y.; Zamani, F.; and Asgarian, F., 2013. Effect of Use Ginger (Zingiber Officinale) And Thymus (Thymus Vulgaris) Extract on Performance And Some Hematological Parameters on Broiler Chicks. *Scientia*, 4: 20-25
- Retnowati, Y., Bialangi, N., dan Posangi, N. W. 2011. Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, 6(2).
- Rijal S. 2017. Pengaruh Penambahan Lempuyang (Zingiber Zerumbet Linn) Pada Campuran Jamu Dalam Pakan Terhadap Kecernaan Bahan Organik Dan Serat Kasar Ayam Kampung Super. Fakultas Pertanian Peternakan Jurusan Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Saifudin, A., Rahayu & Teruna. 2011. Standarisasi Bahan Obat Alam. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Sajid, A., Kashif, N., Kifayat, N., & Ahmad, S. (2016). Detection of Antibiotic Residues in Poultry Meat. *Journal Pharmacology Science* , 29 (5), 1691-1694.
- Saraswati, D. 2014. Aktivitas Bubuk Bunga Cengkeh (*Eugenia aromatic*) Terhadap Kepekaan Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Entropi. Vol IX. No.1. ISSN 1907-1965. Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo.
- Sari, ML. dan Ginting, FGN. 2012. Pengaruh Penambahan Enzim Fitase pada Ransum terhadap Berat Relatif Organ Pencernaan Ayam Broiler. *Agripet*: Vol (12) No.2: 37-41.
- Sellaoui, S., N. Alloui, S. Mehenaoui, and S. Djaaba. 2012. Evaluation of Immune Status of The Chicken Using Morphometry And Histology of The Bursa of Fabricius. *J. Vet. Adv.* 2:440–443
- Shaefuddin, A. 2017. Performa Ayam Broiler Yang Diberi Air Minum Dengan Penambahan Kunyit *Curcuma domestica Vahl*. Departemen Ilmu Produksi Dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Shang, Y., Regassa, A., Kim, J. H., & Kim, W. K. (2015). The Effect of Dietary Fructooligosaccharide Supplementation On Growth Performance, Intestinal Morphology, And Immune Responses In Broiler Chickens Challenged With *Salmonella enteritidis* Lipopolysaccharides. *Poultry Science*, 94(12), 2887–2897. <https://doi.org/10.3382/ps/pev275>
- Singh, C. B., Chanu, S. B., Kh, L., Swapana, N., Cantrell, C., & Ross, S. A. (2014). Chemical composition and biological activity of the essential oil of rhizome of Zingiber zerumbet (L.) Smith. *Journal of Pharmacognosy and*

Phytochemistry, 3(3), 130–133.

- Shokrollahi, B., & Sharifi, B. (2018). Effect Of *Nigella sativa* Seeds On Growth Performance , Blood Parameters , Carcass Quality And Antibody Production In Japanese Quails, 56–64.
- Shewita RS and Taha AE (2011). Effect of Dietary Supplementation of Different Levels of Black Seed (*Nigella sativa*) on Growth, Performance, Immunological, Hematological and Carcass Parameters of Broiler Chicks. *World Academy of*
- Shirzadegan, K., S. Gharahveysi, and M. Irani. (2014). Investigation on Effects of Iranian Green Tea Powder in Diet on Blood Metabolites and Carcass Characteristics of Broiler Chicks Ross308. *Intl. J. Advanc. Biologic. Biomedical .Res.* 2(4): 31-39.
- Shomali, T., N. Mosleh, and S. Nazifi. (2012). Two Weeks of Dietary Supplementation With Green Tea Powder does not Affect Performance, D-Xylose Absorption, and Selected Serum Parameters in Broiler Chickens. *Comparative Clinic. Pathol.* 21(5):1023-1027.
- Sidahmed, H.M., Hashim, N.M., Abdulla, M.A., Ali, H.M., Mohan, S., Abdelwahab, S.I., Taha, M.M., Fai, L.M., Vadivelu, J., 2015. Antisecretory, Gastroprotective, Antioxidant and Anti-Helicobacter Pylori Activity of Zerumbone from *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. *PLOS ONE*, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0121060>.
- Silalahi, M. Botani dan Bioaktivitas Lempuyang (*Zingiber zerumbet* L. Smith). *Jurnal EduMatSains*, 2 (2): 147-160.
- Singh, C. B., Chanu, S. B., Kh, L., Swapana, N., Cantrell, C., & Ross, S. A. (2014). Chemical Composition And Biological Activity of The Essential Oil of Rhizome of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(3), 130–133.
- Soeharsono, S., & Artika, W. (2017). Isolasi Dan Uji Aktivitas Protease Dari Aktinobakteri Isolat Lokal (AKJ-09) Aceh Isolation and Proteolytic Activity of Local Isolates Actinobacteria (*AKJ-09*) from Aceh, 1(3), 116–120.
- Suarni dan Patong, R., 2007, Potensi Kecambah Kacang Hijau Sebagai Sumber Enzim a-Amilase, Universitas Hasanudin, Makasar.
- Suhartono, S., & Artika, W. (2017). Isolasi dan uji aktivitas protease dari aktinobakteri isolat lokal (AKJ-09) Aceh Isolation and proteolytic activity of local isolates actinobacteria (*AKJ-09*) from Aceh, 1(3), 116–120.

- Sulaiman, M.R., Mohamad, T.A.S.T., Mossadeq, W.M.S., Moin, S., Yusof, M., Mokhtar, A.F., Zakaria, Z.A., Israf, D.A., Lajis, N., 2010. Antinociceptive Activity of The Essential Oil of *Zingiber zerumbet*. *Planta Med.* 76, 107–112.
- Sun, Y., Cai, X., Cao, J., Wu, Z., & Pan, D. (2018). Effects of 1,8-Cineole on Carbohydrate Metabolism Related Cell Structure Changes of Salmonella. *Frontiers In Microbiology*, 9(MAY), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01078>
- Suprijatna, E. 2010. *Strategi Pengembangan Ayam Lokal Berbasis Sumber Daya Lokal Dan Berwawasan Lingkungan*. Prosiding Seminar Nasional Unggas Lokal ke IV: 55 –79.
- Sutardi, L. N., Wientarsih, I., Handharyani, E., & Setiyono, A. (2015). Indonesian Wild Ginger (*Zingiber* sp) Extract: Antibacterial Activity Against *Mycoplasma gallisepticum*. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(10), 59–64.
- Svihus, B. 2014. Function Of The Digestive System. *Journal Appl. Poultry Science* 23: 306-314.
- Syafitri. 2019. Pengaruh Pemberian *Curcuma xanthoriza* Roxb Terhadap Perbaikan Kerusakan Sel Hepar. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. Volume 6. No. 3. Hal 236-241.
- Syahrudin. 2013. Penentuan aktivitas SGOT dan SGPT pada Hewan Uji Kelinci yang Telah Diberi Ekstrak Tiram *Crassostrea iredalei* Asal Pantai Takalar, Sulawesi Selatan. Seminar Nasional Kefarmasian II. STIF A Makasar.
- Thaha, A. H. 2016. Gambaran Klinis Dan Prevalensi Salmonellosis Pada Ayam Ras Petelur Di Desa Tanete Kec. Maritenggae Kabupaten Sidrap. Gambaran Klinis Dan Prevalensi Salmonellosis. *Jurnal Ilmu Dan Industri Perternakan*, 3(1): 160-168.
- Thung T.Y., N. A. Mahyudin, D. F. Basri, C. W. J. Wan Mohamed Radzi, Y. Nakaguchi, M. Nishibuchi, S. Radu. (2016). Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in Raw Chicken Meat at Retail Markets in Malaysia. *Poult Sci* .95 (8): 1888-1893.
- Tjay, T.H. dan Rahardja, K., 2015, *Obat-Obat Penting*, Jakarta, Gramedia.
- Toghyani, M., Gheisari, A., Ghalamkari, G., Mohammadrezaei, M., 2010. Growth Performance, Serum Biochemistry and Blood Hematology of Broiler Chicks Fed Different Levels of Black Seed (*Nigella sativa*) and peppermint (*Mentha piperita*). *Livestock Science*, 129, 173-17
- Toghyani, M., & Faghan, N. (2017). Effect of Sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit powder as An antibiotic Growth Promoter Substitution on Growth Performance, Immune Responses and Serum Lipid Profile of Broiler Chicks. *Indian*

Journal of Pharmaceutical Education and Research, 51(3), S295–S298.
<https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.33>

- Tripathi, M., P. Chawla, R. Uphadhyay and S. Trivedi. (2013). Essential Oils from Family *Zingiberaceae* for Antimicrobial Activity. A Review. *Int.J. Pharm. Bio. Sci.* 4 (4), 149-162
- Tufan, T., Arslan, C., Sarı, M., Kaplan, O., 2015. Effect of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Seeds or Black Cumin Oil Addition to Japanese Quail Diets On Growth Performance, Carcass Traits And Some Blood Parameters. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21, 593-599.
- Udomthanadech, K., Vajrodaya, S., & Paisooksantivatana, Y. (2015). Antibacterial Properties of The Extracts From Some *Zingiberaceous* species in Thailand Against Bacteria Causing Diarrhea and Food Poisoning in Human. *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*, 6(5, Spec. Issue), 203–213.
<https://doi.org/10.14456/itjemast.2015.4>
- Ulupi, N., Muladno, Sumantri, C., & Wayan Teguh Wibawan, I. (2013). Association Of TLR4 Gene Genotype And Resistance Against *Salmonella enteritidis* Natural Infection in Kampung Chicken. *International Journal of Poultry Science*, 12(8), 445–450. <https://doi.org/10.3923/ijps.2013.445.450>
- Upa G., Ali, A., Arimaswati, Purnamasari, Y. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhii* dan *Shigella dysenteriae*. 4(2): 354-360.
- Valle DL, Puzon JJM, Cabrera EC, Rivera WL. 2016. Thin Layer Chromatography-Bioautography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Antimicrobial Leaf Extracts from Philippine *Piper betle* L. against Multidrug-Resistant Bacteria. Hindawi Publishing Corporation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2016. Article ID 4976791: 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4976791>
- Waheed, S., Hasnain, A., Ahmad, A., Tarar, O. M., Yaqeen, Z., & Ali, T. M. (2017). Effect of Spices And Sweet Violet Extracts to Replace Antibiotics And Antioxidants in Feed on Broiler Performance, Hematology, Lipid Profile And Immunity. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 27(3), 714–724.
- Wang Y, Jin L, Ominski KH, He M, Xu Z, Krause DO. 2013. Screening of Condensed Tannins from *Canadian prairie* Forages for Anti-*Escherichia coli* O157:H7 with An Emphasis on Purple Prairie Clover (*Dalea purpurea* Vent). *J Food Prot* 76(4): 560 -567.

- Widhyari SD, Esfandiari A, Herlina. 2011. Profil Protein Total, Albumin Dan Globulin Pada Ayam Broiler Yang Diberi Kunyit, Bawang Putih dan Zinc (Zn). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, Vol. 16 No.3. Hal 179-184
- Widodo W, Rahayu I D, Sutanto A dan Anggraini A D. 2017 Penambahan lempuyang dalam pakan ayam Kampung Super yang menggunakan campuran jamu. *Seminar Nasional dan Gelar Produk Universitas Muhammadiyah Malang* 17-18 Oktober 2017. 469-473
- Wischmeyer, P. E., McDonald, D., and Knight, R. (2016). Role of the Microbiome, Probiotics, and 'Dysbiosis Therapy' In Critical Illness. *Curr. Opin. Crit. Care* 22, 347–353. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000321
- Yasin. 2010. Pencernaan Serat Kasar pada Ternak Unggas. *Jurnal Ilmiah Inkoma*, Volume 21, Nomor 3, Hal : 125-135.
- Ye Y, Yang Q, Fang F, Li Y. 2015. The Camelliagenin from Defatted Seeds of *Camellia oillifera* As Antibiotic Substitute to Treat Chicken against Infection of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *BMC Veterinary Research* 11:214.
- Yob, N. J., Jofrry, S. M., Affandi, M. M. R. M. M., Teh, L. K., Salleh, M. Z., & Zakaria, Z. A. (2011). Zingiber zerumbet (L.) Smith: A Review of Its Ethnomedicinal, Chemical, and Pharmacological Uses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2011/543216>
- Yunus, M., Amin, N., & Nurhaeda, N. (2014). Evaluasi Kandungan Lemak Subkutan Dan Abdominal Broiler Yang Diberi Tepung Lempuyang (Zingiber Aromaticum Val) Dan Tepung Kunyit (Curcuma Domesticum) Dalam Pakan Subtitusi. *Jurnal Galung Tropika*, 3(3), 213–220.
- Zainuddin, Dian, M., Fitriani, Firda, M., Sri, W., Roslizawaty, Mulyadi, A. 2015. *Gambaran Histologi Kelenjar Ayam Kampung, Bebek, Dan Merpati*. *Jurnal Medika Venterinaria*. 9(1): 68-70
- Zhao, X., Yang, J., Wang, L., Lin, H., & Sun, S. (2017). Protection Mechanism Of Clostridium Butyricum against *Salmonella enteritidis* Infection In Broilers. *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG), 4–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01523>.
- Zuhra, F. T., Paul, A. K., Riad, M. M., & Ahmed, M. S. (2018). Effects of Probiotics and Phytoextracts on Growth and Immunomodulating Performances of Broiler Chickens. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 16(1), 13–21. <https://doi.org/10.3329/bjvm.v16i1.37368>



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396

KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 386/ 102.7/ 2017
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Lempuyang Gajah

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : drh. IMBANG DWI RAHAYU, M.Kes
NIM : 201610580111003
Fakultas : PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
PASCA SARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

1. Perihal determinasi tanaman lempuyang gajah

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Bangsa : Zingiberales
Suku : Zingiberaceae
Marga : Zingiber
Jenis : *Zingiber zerumbet* SM.
Sinonim : Lempuyang gajah (Jawa Tengah), Lempuyang paek (Madura).
Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-110b-111b-112a-113b-116a-119b-120b-128b-129a-130b-132a.

2. Morfologi : Habitus: Semak, semusim, tinggi \pm 1 m. Batang: Tegak, semu, membentuk rimpang. Daun: Tunggal, bentuk lanset, tepi rata, ujung dan pangkal runcing, permukaan licin, panjang 25-40 cm, lebar 10-15 cm, hijau muda, pelepah bentuk talang, panjang \pm 17 cm, tangkai panjang \pm 10 cm, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bongkol, tumbuh dari pangkal rimpang, tangkai panjang \pm 12 cm, merah, kelopak lepas satu sama lain, merah. Biji: Bulat panjang, diameter \pm 4 mm, hitam. Akar: Serabut, kuning keputih-putihan.

3. Nama Simplisia : Zingiberis zerumbeti Rhizoma/ Rimpang Lempuyang Gajah.

4. Kandungan kimia : Rimpang mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, polifenol, dan minyak atsiri; juga terdapat kurkumin, suatu zat warna kuning; 3",4"-diasetilafzelin (mempunyai efek sitotoksik). Minyak atsiri rimpang terdiri dari sineol, dipenten, limonen, kariofilen, arkurkumen, y-g-kadinen, kariofilenoksida, humulenepoksida I, II, III, -humulenol I, II, heksahidrohumulenol II, heksahidrohumulenon, zerumbonoksida; kamfen, humulen, zerumbon. Pada RAS lain ditemukan mirsen, a-terpineol, dan y-terpinen.

5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Anonim. www.warintek.ristek.go.id/lempuyang%gajah/, diakses 12 Oktober 2010.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 27 Oktober 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husni R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.19611102 199103 1 003



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu

KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 385 / 102.7 / 2017
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Skrining Fitokimia

Halaman : 1 dari 3

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : drh. Imbang Dwi Rahayu, M.Kes.

NIM : 201610580111003

Program Studi : Doktor Ilmu Pertanian Pasca Sarjana, Universitas Muhammadiyah Malang

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan Skrining Fitokimia untuk bahan penelitian dari ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet (L.) J. E. Smith*) dengan menggunakan pelarut Etanol 45%, 70%, dan 95%. Adapun proses skrining dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan rincian sebagai berikut :

Bahan	: Aquadest	Pereaksi Bouchardat	FeCl ₃ 1%
	Serbuk Mg	Pereaksi Meyer	
	HCl pekat	Pereaksi Dragendrof	
Alat	: Tabung Reaksi	Penjepit Tabung Reaksi	Spatula Stainlesssteel
	Pipet Tetes	Gelas Ukur	Bunsen
	Corong Gelas	Mikro Pipet	Beaker Glass

Cara Kerja :

I. Identifikasi Flavonoid

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi → Ditambahkan HCl pekat beberapa tetes → Ditambahkan sedikit serbuk Mg → Hasil Positif: warna merah tua / merah muda

II. Identifikasi Alkaloid

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi → Ditambahkan 6 tetes Pereaksi Meyer pada tabung reaksi pertama, 6 tetes Pereaksi Dragendrof pada tabung reaksi kedua, dan 6 tetes Pereaksi Bouchardat pada tabung reaksi ketiga → Hasil Positif: terdapat endapan putih pada Alkaloid dengan Pereaksi Meyer, terdapat endapan jingga pada Alkaloid dengan Pereaksi Dragendrof, dan terdapat endapan cokelat pada Alkaloid dengan Pereaksi Bouchardat

III. Identifikasi Tanin

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi → Ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1% → Hasil Positif: warna coklat kehitaman, biru kehitaman, hijau kehitaman

IV. Identifikasi Terpenoid

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi → Ditambahkan 3 tetes bouchardat → Hasil Positif: warna hijau kebiruan mengandung Terpenoid jenis Steroid, warna orange atau jingga kecokelatan mengandung Terpenoid jenis Triterpenoid

V. Identifikasi Saponin

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi → Ditambahkan 2ml air panas → Dikocok kuat → Hasil Positif: terbentuk buih permanen selama tidak kurang dari 10menit setinggi 1-10cm → Ditambahkan HCl pekat 1tetes → Hasil Positif: busa permanen tidak hilang

Nomor : 074 / 445 / 102.7 / 2017
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Skrining Fitokimia

Halaman : 1 dari 3

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : drh. Imbang Dwi Rahayu, M.Kes.
NIM : 201610580111003
Program Studi : Doktor Ilmu Pertanian Pasca Sarjana, Universitas Muhammadiyah Malang

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan Skrining Fitokimia untuk bahan penelitian dari ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet (L.) J. E. Smith*) dengan menggunakan pelarut Etanol 45%, 70%, dan 95%. Adapun proses skrining dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan rincian sebagai berikut :

Bahan : Aquadest
Pereaksi Bouchardat

Alat : Tabung Reaksi Penjepit Tabung Reaksi Spatula Stainlesssteel
Pipet Tetes Gelas Ukur Bunsen
Corong Gelas Beaker Glass

Cara Kerja :

1. Identifikasi Terpenoid Jenis Steroid

2 ml sampel ekstrak → Ditambahkan 8 ml aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit → Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi → Ditambahkan 3 tetes bouchardat → Hasil Positif: warna hijau kebiruan mengandung Terpenoid jenis Steroid, warna orange atau jingga kecokelatan mengandung Terpenoid jenis Triterpenoid


Hasil :

Nama Sampel	Pelarut	Steroid
Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i> (L.) J. E. Smith)	Etanol 45%	-
	Etanol 70%	-
	Etanol 95%	-









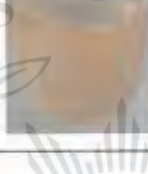
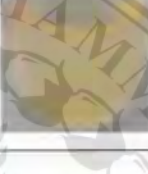


Kesimpulan :










- Uji Steroid → Hasil Negatif (-) tidak mengandung Steroid untuk semua jenis sampel

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya

Batu, 21 Desember 2017
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM, Drs. Apt. MKes.
NIP.19611102 199103 1 003

Hasil :

Nama Sampel	Pelarut	Flavonoid	Alkaloid		
			Pereaksi Meyer	Pereaksi Dragendrof	Pereaksi Bouchardat
Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i> (L.) J. E. Smith)	Etanol 45%	- 	- 	+ 	- 
	Etanol 70%	- 	+ 	+ 	+ 
	Etanol 95%	+ 	- 	- 	+ 

Nama Sampel	Pelarut	Tanin	Terpenoid	Saponin
Lempuyang Gajah (<i>Zingiber zerumbet</i> (L.) J. E. Smith)	Etanol 45%	+ 	+ 	+ 
	Etanol 70%	+ 	+ 	+ 
	Etanol 95%	+ 	+ 	- 

Kesimpulan :

- Uji Flavonoid → Hasil Positif (+) mengandung Flavonoid pada ekstrak lempuyang gajah dengan pelarut etanol 95%, ditunjukkan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi merah muda
- Uji Alkaloid dengan Pereaksi Meyer → Hasil Positif (+) mengandung Alkaloid dengan Pereaksi Meyer pada ekstrak lempuyang gajah dengan pelarut etanol 70%, ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna putih
- Uji Alkaloid dengan Pereaksi Dragendrof → Hasil Positif (+) mengandung Alkaloid dengan Pereaksi Dragendrof pada ekstrak lempuyang gajah dengan pelarut etanol 45% dan 70%, ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga
- Uji Alkaloid dengan Pereaksi Bouchardat → Hasil Positif (+) mengandung Alkaloid dengan Pereaksi Bouchardat pada ekstrak lempuyang gajah dengan pelarut etanol 70% dan 95%, ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Halaman : 3 dari 3

Kesimpulan :

- Uji Tanin → Hasil Positif (+) mengandung Tanin untuk semua jenis sampel, ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi coklat kehitaman
- Uji Terpenoid → Hasil Positif (+) mengandung Terpenoid jenis Triterpenoid untuk semua jenis sampel, ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga kecoklatan
- Uji Saponin → Hasil Positif (+) mengandung Saponin pada ekstrak lempuyang gajah dengan pelarut etanol 45% dan 70%, ditunjukkan dengan adanya busa permanen yang tidak hilang

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 02 November 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu


Dr. Husin RM, Drs. Apt. MKes.
NIP.196111021991031003

Lampiran 3. Surat keterangan Proses Pembuatan Serbuk Lempuyang



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 045 / 1325 / 1027 / 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Surat Keterangan Proses Pembuatan Serbuk**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : drh. IMBANG DWI RAHAYU, M.Kes
NIM : 201610580111003
Fakultas : PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

Bahan : Rimpang Lempuyang Gajah

Berat basah : 5,2 kg

Berat serbuk : 0,5 kg

Pengeringan

a) Suhu : 45 °C

b) Mesin : Hunan China XD-12

c) Waktu : 5 hari

Penggilingan

a) Mesin : Hunan China CFSJ-250B

Proses :

- Sortasi basah rimpang lempuyang gajah untuk memisahkan bahan asing yang terbawa saat pemanenan
- Pencucian rimpang dengan menggunakan air mengalir lalu ditiriskan sebentar
- Dilanjutkan tahap pengeringan menggunakan oven
- Pengeringan selesai setelah kadar air tanaman (rimpang lempuyang gajah) mencapai $\leq 10\%$
- Rimpang lempuyang gajah yang telah kering digiling menggunakan mesin penggilingan dan didapatkan serbuk rimpang lempuyang gajah.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 27 Nopember 2017
Penanggungjawab Pasca Panen

Fitria Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP. 19900430 201403 2 002

Lampiran 4. Surat Keterangan Ekstrak *Zingiber zerumbet* L. Smith (Etanol 45%)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 392/ 102.7/ 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Lempuyang Gajah**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : drh. IMBANG DWI RAHAYU, M.Kes
NIM : 201610580111003
Fakultas : PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
PASCA SARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* SM.). Adapun proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut:

BAHAN	: Rimpang lempuyang gajah serbuk Etanol 45%
ALAT	: Penyaring Toples tertutup Corong gelas Timbangan analitik Gelas ukur Botol Waterbath
	: Erlenmeyer Rotary evaporator Beaker glass Shaker digital Alkoholmeter

Cara Kerja :

1. Timbang rimpang lempuyang gajah serbuk sebanyak 100 gram.
2. Lakukan pembasahan dengan pelarut etanol 45% sebanyak 100 ml
3. Masukkan serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 45% sampai terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat atau lebih). Pelarut yang ditambahkan sebanyak 1 L. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan dishaker di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm.
4. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam Erlenmeyer.
5. Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Diperlukan waktu 1 jam 30 menit untuk evaporasi.
6. Ekstrak yang dihasilkan dievaporasi / diuapkan diatas water bath selama 2 jam.

Hasil :

1. Dari 100 gram rimpang lempuyang gajah serbuk yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 45% sebanyak 1 L dihasilkan ekstrak cair sebanyak 90 ml.

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 09 November 2017



UPT Materia Medica Batu

Drs. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 196111021991031003

Lampiran 5. Surat Keterangan Ekstrak *Zingiber zerumbet* L. Smith (Etanol 70%)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

No: 074/393/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Lempuyang Gajah

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : drh. IMBANG DWI RAHAYU, M.Kes
NIM : 201610580111003
Fakultas : PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
PASCA SARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* SM.). Adapun proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut:

BAHAN	Rimpang lempuyang gajah serbuk Etanol 70%
ALAT	Penyaring Toples bertutup Corong gelas Timbangan analitik Gelas ukur Botol Waterbath Erlenmeyer Rotary evaporator Beaker glass Shaker digital Alkoholmeter

Cara Kerja :

1. Timbang rimpang lempuyang gajah serbuk sebanyak 100 gram
2. Lakukan pembasahan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 100 ml
3. Masukkan serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 70% sampai terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat atau lebih). Pelarut yang ditambahkan sebanyak 1 L. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan dishaker di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm.
4. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam Erlenmeyer.
5. Hasil ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Diperlukan waktu 1 jam untuk evaporasi.
6. Ekstrak yang dihasilkan dievaporasi / diuapkan diatas water bath selama 2 jam.

Hasil :

1. Dari 100 gram rimpang lempuyang gajah serbuk yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L dihasilkan ekstrak cair sebanyak 65 ml.

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 09 November 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu

Drs. Husni R.M., Drs. Apt., M.Kes.
NIP. 19610219910311003

Lampiran 6. Surat Keterangan Ekstrak *Zingiber zerumbet* L. Smith (Etanol 95%)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 394/ 102.7/ 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Lempuyang Gajah**

Memenuhi permohonan saudara .

Nama : drh. IMBANG DWI RAHAYU, M.Kes
NIM : 201610580111003
Fakultas : PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
PASCA SARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* SM.). Adapun proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan prosedur sebagai berikut:

BAHAN	: Rimpang lempuyang gajah serbuk Etanol 95% Penyaring	
ALAT	: Toples bertutup Corong gelas Timbangan analitik Gelas ukur Botol Waterbath	Erlenmeyer Rotary evaporator Beaker glass Shaker digital Alkoholmeter

Cara Kerja :

1. Timbang rimpang lempuyang gajah serbuk sebanyak 150 gram
2. Lakukan pembasahan dengan pelarut etanol 95% sebanyak 150 ml
3. Masukkan serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 95% sampai terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat atau lebih). Pelarut yang ditambahkan sebanyak 1 L. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan dishaker di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm.
4. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam Erlenmeyer.
5. Ampas dimasukkan lagi dalam toples dan tambahkan pelarut sampai terendam (minimal pelarut 5 cm di atas permukaan); dalam hal ini digunakan 1 L.
6. Biarkan semalam atau 24 jam di atas shaker kecepatan 50 rpm.
7. Hasil ekstrak cair pertama dan kedua dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Diperlukan waktu 2 jam untuk evaporasi.
8. Ekstrak yang dihasilkan dievaporasi / diuapkan diatas water bath selama 2 jam.

Hasil :

1. Dari 150 gram rimpang lempuyang gajah serbuk yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 2 L dihasilkan ekstrak cair sebanyak 49 ml.

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 09 November 2017

Drs. Husin R.M., Drs. Apt., M.Kes
NIP. 196113102 199103 1 003

Lampiran 7. Surat Keterangan Hasil Histopatologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
LABORATORIUM PATOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA

Jl. Fauna, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Tlp. (0274) 9061103, 560862 Fax. 560861

Hal : hasil histopatologi

Kepada

Yth. drh. Imbang Dwi Rahayu Mkes

Jur. Peternakan, Fakultas Pertanian/Peternakan, UMM

Dengan hormat,

Bersama ini dikirim hasil histopatologi ayam broiler dengan berbagai perlakuan sbb.

No	Kode	Hati	Limpa	Bursa fabricius
1.	PO.1	-	-	-
2.	2	-	-	-
3.	3	-	-	-
4.	4	Nekrosis (4)	-	Oedem
5.	PL.U2	-	-	-
6.	3	Nekrosis (4)	-	-
7.	4	Nekrosis (4)	-	-
8.	P2.U1	Nekrosis (4)	-	-
9.	2	-	-	-
10.	5	Nekrosis (4)	-	Oedem
11.	P3.U1	Degenerasi vacuoler	-	-
12.	2	-	-	-
13.	4	-	-	Oedem
14.	P4.U1	-	-	-
15.	2	-	-	Nekrosis
16.	3	Nekrosis(2), radang	-	Tidak ada

Duodenum				Jejunum				Ileum			
Epit	T.vili	KL	G.sel	Epit	T.vili	KL	G.sel	Epit	T.vili	KL	G.sel
9	122	15	10	9	136	10	20	8.5	60	10	15
9	124	13	13	8.5	142	12	22	9	55	8	14
8.5	130	14	22	9	140	16	25	9	66	12	18
9	124	16	16	9	138	16	26	8.5	54	14	17
9.5	119	26	28	9	137	28	11	9	40	16	10
9	120	22	15	8.5	170	25	16	9	60	14	11
8.5	85	20	12	9	130	22	14	8.5	NO	15	15
8.5	122	16	20	8.5	160	18	20	8.5	68	16	24
9	124	15	22	8.5	154	16	24	8.5	57	15	26
8.5	120	15	25	9	140	20	28	9	65	13	28
9	114	16	24	9	119	18	26	8.5	75	18	26
9	116	14	20	9	120	18	24	9	68	16	24
8.5	90	17	21	8.5	NO	20	22	9	80	15	22
9.5	115	14	36	8.5	140	22	30	9	68	18	40
9	106	15	30	9	138	18	31	8.5	65	17	36
8.5	100	15	34	8.5	135	20	28	9	70	15	38

yogyakarta, 9-5-2019

Senior pathologist,

Prof. drh. Kurniasih, MVSc, PhD

NIP. 19510522 1977032 001



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

LABORATORIUM KIMIA

Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang Telp. (0341) 464318 Psw. 152 Malang 65144

SURAT KETERANGAN HASIL UJI

No : 030 / LK-B / IV / 2018

Nama : drh. Imbang Dwi Rahayu, M.Kes
 Fakultas : Pertanian Peternakan
 Universitas : Muhammadiyah Malang
 Tanggal penerimaan : 22 Maret 2018

HASIL PEMERIKSAAN UJI

- Kadar Senyawa Yang Larut Dalam Etanol

Sampel		W0	W1	W2	Kadar Senyawa Larut Etanol
Lempuyang Gajah 45 %	I	20,098	1,006	20,12	2,187
	II	19,480	1,021	19,503	2,253
Lempuyang Gajah 70 %	I	20,101	1,012	20,112	1,087
	II	19,484	1,016	19,497	1,280
Lempuyang Gajah 95 %	I	20,100	1,008	20,129	2,877
	II	19,483	1,021	19,504	2,057

$$\% \text{ kadar senyawa larut etanol} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 : bobot cawan kosong

W1 : bobot ekstrak awal

W2 : bobot cawan + residu yang dioven

- Kadar Abu Total

Sampel		W0	W1	W2	Kadar Abu Total
Lempuyang Gajah 45 %	I	21,250	1,013	21,271	2,073
	II	22,808	1,012	22,829	2,075
Lempuyang Gajah 70 %	I	26,047	1,007	26,057	0,993
	II	23,869	1,011	23,879	0,989
Lempuyang Gajah 95 %	I	24,038	1,008	24,061	2,282
	II	20,472	1,004	20,495	2,291

$$\% \text{ Kadar Abu Total} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

▪ Kadar Abu Tidak Larut Asam

Sampel		W0	W1	W2	Kadar Abu Tidak Larut Asam
Lempuyang Gajah 45 %	I	21,250	1,013	21,250	0,00000
	II	22,808	1,012	22,808	0,00000
Lempuyang Gajah 70 %	I	26,047	1,007	26,048	0,09930
	II	23,869	1,011	23,870	0,09891
Lempuyang Gajah 95 %	I	24,038	1,008	24,040	0,19841
	II	20,472	1,004	20,473	0,09960

$$\% \text{ Kadar Abu Tidak Larut Asam} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 : bobot cawan kosong (g)

W1 : bobot ekstrak awal (g)

W2 : bobot cawan + ekstrak setelah diabukan (g)

▪ Bobot Jenis

Sampel		W0	W1	W2	d
Lempuyang Gajah 45 %	I	28,164	38,572	38,571	0,999904
	II	28,164	38,572	38,541	0,997022
Lempuyang Gajah 70 %	I	28,164	38,572	38,344	0,978094
	II	28,164	38,572	38,347	0,978382
Lempuyang Gajah 95 %	I	28,164	38,572		
	II	28,164	38,572		

$$d = \frac{W2 - W0}{W1 - W0}$$

Keterangan :

d : bobot jenis

W0 : bobot piknometer kosong

W1 : bobot piknometer + air

W2 : bobot piknometer + ekstrak

Malang, 16 April 2018

Bidang Penelitian dan Pengujian
Laboratorium Kimia



Dani Muara Histo, S.Si

Mengetahui,
Kepala Laboratorium Kimia



Dr. Nurul Mahmudati, Dra, M.Kes.

Laboratorium Kimia

UMM | 2018

Lampiran 10. 1 Analisis Variansi Jumlah *Salmonella enteritidis*

Dependent Variable: Jumlah S.enteritidis

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	28.561 ^a	20	1.428	32.761	.000
Intercept	544.215	1	544.215	1.248E4	.000
Ulangan	4.203	9	.467	10.713	.000
Faktor_1	12.885	2	6.442	147.792	.000
Faktor_2	8.300	3	2.767	63.467	.000
Faktor_1 * Faktor_2	3.174	6	.529	12.135	.000
Error	4.316	99	.044		
Total	577.092	120			
Corrected Total	32.877	119			

Estimated Marginal Means

1. Konsentrasi Alkohol

Dependent Variable: Jumlah S.enteritidis

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
45%	2.310	.033	2.244	2.375
70%	2.409	.033	2.344	2.475
95%	1.670	.033	1.604	1.735

2. Konsentrasi Lempuyang

Dependen Variable Jumlah S. enteritidis

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
2.5%	2.298	.038	2.222	2.374
5%	2.346	.038	2.270	2.421
7.5%	2.190	.038	2.114	2.266
10%	1.685	.038	1.609	1.760

3. Konsentrasi Alkohol * Konsentrasi Lempuyang

Dependent Variable: Jumlah *S. enteridis*

Konsentrasi Alkohol	Konsentrasi Lempuyang	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45%	2.5%	2.476	.066	2.345	2.607
	5%	2.715	.066	2.584	2.846
	7.5%	2.541	.066	2.410	2.672
	10%	1.507	.066	1.376	1.638
70%	2.5%	2.591	.066	2.460	2.722
	5%	2.595	.066	2.464	2.726
	7.5%	2.288	.066	2.157	2.419
	10%	2.163	.066	2.032	2.294
95%	2.5%	1.827	.066	1.696	1.958
	5%	1.727	.066	1.596	1.858
	7.5%	1.741	.066	1.610	1.872
	10%	1.384	.066	1.253	1.515

Uji Duncan Konsentrasi Alkohol Terhadap Jumlah *S. enteritidis*

Konsentrasi Alkohol	Konsentrasi Lempuyang	N	Subset		
			1	2	3
Duncan ^a	95%	40	1.6698		
	45%	40		2.3098	
	70%	40			2.4092
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Uji Duncan Konsentrasi Lempuyang Terhadap Jumlah *S. enteritidis*

Konsentrasi Lempuyang	Konsentrasi Alkohol	N	Subset		
			1	2	3
Duncan ^a	10%	30	1.6847		
	7.5%	30		2.1900	
	2.5%	30			2.2980
	5%	30			2.3457
	Sig.		1.000	1.000	.379

Lampiran 10. 2 Analisis Variansi Jumlah *Salmonella typhimurium*

Dependent Variable: Uji Jumlah *S.typhimurium*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	114.494 ^a	20	5.725	83.563	.000
Intercept	1565.224	1	1565.224	2.285E4	.000
Ulangan	.378	9	.042	.614	.783
Faktor_1	103.355	2	51.677	754.336	.000
Faktor_2	1.371	3	.457	6.670	.000
Faktor_1 * Faktor_2	9.390	6	1.565	22.844	.000
Error	6.782	99	.069		
Total	1686.500	120			
Corrected Total	121.276	119			

Estimated Marginal Means

1. Konsentrasi Alkohol

Dependent Variable: Hasil Uji Jumlah *S.typhimurium*

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
45%	3.973	.041	3.891	4.055
70%	4.524	.041	4.442	4.606
95%	2.338	.041	2.256	2.420

2. Konsentrasi Lempuyang

Dependent Variable Hasil Jumlah *S.typhimurium*

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
2.5%	3.701	.048	3.607	3.796
5%	3.563	.048	3.468	3.657
7.5%	3.722	.048	3.628	3.817
10%	3.460	.048	3.365	3.555

3. Konsentrasi Alkohol * Konsentrasi Lempuyang

Dependent Variable: Hasil Uji Jumlah *S.typhimurium*

Konsentra si ...	Konsentra si ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45%	2.5%	3.596	.083	3.432	3.760
	5%	4.277	.083	4.113	4.441
	7.5%	4.135	.083	3.971	4.299
	10%	3.883	.083	3.719	4.047
70%	2.5%	4.477	.083	4.313	4.641
	5%	4.482	.083	4.318	4.646
	7.5%	4.802	.083	4.638	4.966
	10%	4.334	.083	4.170	4.498
95%	2.5%	3.031	.083	2.867	3.195
	5%	1.929	.083	1.765	2.093
	7.5%	2.230	.083	2.066	2.394
	10%	2.163	.083	1.999	2.327

Uji Duncan Konsentrasi Alkohol Terhadap Jumlah *S.typhimurium*

Konsentra si ...	N	Subset		
		1	2	3
Duncan ^a 95%	40	2.3382		
45%	40		3.9727	
70%	40			4.5237
Sig.		1.000	1.000	1.000

Uji Duncan Konsentrasi Lempuyang Terhadap Jumlah *S.typhimurium*

Konsentra si ...	N	Subset	
		1	2
Duncan ^a 10%	30	3.4600	
5%	30	3.5627	
2.5%	30		3.7013
7.5%	30		3.7223
Sig.		.132	.757

Lampiran 10. 3 Analisis Variansi Zona Hambat *Salmonella enteritidis*

Dependent Variable: Hasil Uji Hambat *S. enteritidis*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	105.939 ^a	20	5.297	311.694	.000
Intercept	952.033	1	952.033	5.602E4	.000
Ulangan	.055	9	.006	.357	.953
Faktor_1	21.220	2	10.610	624.339	.000
Faktor_2	65.603	3	21.868	1.287E3	.000
Faktor_1 * Faktor_2	19.062	6	3.177	186.946	.000
Error	1.682	99	.017		
Total	1059.655	120			
Corrected Total	107.622	119			

1. Konsentrasi Alkohol

Dependent Variable: Hasil Uji Hambat *S. enteritidis*

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
45%	2.408	.021	2.367	2.448
70%	3.395	.021	3.354	3.436
95%	2.648	.021	2.607	2.688

2. Konsentrasi Lempuyang

Dependent Variable: Hasil Uji Hambat *S. enteritidis*

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
2.5%	1.843	.024	1.796	1.891
5%	2.377	.024	2.329	2.424

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
7.5%	3.370	.024	3.323	3.417
10%	3.677	.024	3.629	3.724

3. Konsentrasi Alkohol * Konsentrasi Lempuyang

Dependent Variable: Uji Hambat *S.enteridis*

Konsentra si ...	Konsentra si ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45%	2.5%	1.230	.041	1.148	1.312
	5%	1.280	.041	1.198	1.362
	7.5%	3.210	.041	3.128	3.292
	10%	3.910	.041	3.828	3.992
70%	2.5%	2.240	.041	2.158	2.322
	5%	3.650	.041	3.568	3.732
	7.5%	3.840	.041	3.758	3.922
	10%	3.850	.041	3.768	3.932
95%	2.5%	2.060	.041	1.978	2.142
	5%	2.200	.041	2.118	2.282
	7.5%	3.060	.041	2.978	3.142
	10%	3.270	.041	3.188	3.352

Uji Duncan Konsentrasi Etanol Terhadap Zona Hambat *S.enteritidis*

	Konsentra si ...	N	Subset		
			1	2	3
Duncan ^a	45%	40	2.4075		
	95%	40		2.6475	
	70%	40			3.3950
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Uji Duncan Konsentrasi Lempuyang Terhadap Zona Hambat *S.enteritidis*

	Konsentra si ...	N	Subset			
			1	2	3	4
Duncan ^a	2.5%	30	1.8433			
	5%	30		2.3767		
	7.5%	30			3.3700	
	10%	30				3.6767
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 10. 4 Analisis Varian Zona Hambat *Salmonella typhimurium*

Dependent Variable: Hasil Uji Hambat *S.typhimurium*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	172.743 ^a	20	8.637	721.635	.000
Intercept	181.302	1	181.302	1.515E4	.000
Ulangan	.082	9	.009	.762	.651
Faktor_1	90.861	2	45.431	3.796E3	.000
Faktor_2	31.755	3	10.585	884.376	.000
Faktor_1 * Faktor_2	50.045	6	8.341	696.876	.000
Error	1.185	99	.012		
Total	355.230	120			
Corrected Total	173.928	119			

1. Konsentrasi Alkohol

Dependent Variable: Hasil Uji Hambat *S.typhimurium*

Konsentrasi ...		Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45%		1.895	.017	1.861	1.929
70%		1.792	.017	1.758	1.827
95%		1.02E-15	.017	-.034	.034

2. Konsentrasi Lempuyang

Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
2.5%	.523	.020	.484	.563
5%	.997	.020	.957	1.036
7.5%	1.880	.020	1.840	1.920
10%	1.517	.020	1.477	1.556

3. Konsentrasi Alkohol * Konsentrasi Lempuyang

Dependent Variable: Uji Hambat *S.typhimurium*

Konsentrasi ...	Konsentrasi ...	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
45%	2.5%	-3.75E-17	.035	-.069	.069
	5%	1.190	.035	1.121	1.259
	7.5%	3.760	.035	3.691	3.829
	10%	2.630	.035	2.561	2.699
70%	2.5%	1.570	.035	1.501	1.639
	5%	1.800	.035	1.731	1.869
	7.5%	1.880	.035	1.811	1.949
	10%	1.920	.035	1.851	1.989
95%	2.5%	4.06E-16	.035	-.069	.069
	5%	7.52E-16	.035	-.069	.069
	7.5%	-1.91E-15	.035	-.069	.069
	10%	4.84E-15	.035	-.069	.069

Uji Duncan Konsentrasi Etanol Terhadap Zona Hambat *S.typhimurium*

Konsentrasi ...	N	Subset		
		1	2	3
Duncan ^a				
95%	40	.0000		
70%	40		1.7925	
45%	40			1.8950
Sig.		1.000	1.000	1.000

Uji Duncan Konsentrasi Lempuyang Terhadap Zona Hambat *S.typhimurium*

Konsentrasi ...	N	Subset			
		1	2	3	4
Duncan ^a					
2.5%	30	.5233			
5%	30		.9967		
10%	30			1.5167	
7.5%	30				1.8800
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 11.1 Analisis Varian dan Uji Duncan Berat Organ Viseral

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TIMUS	Between Groups	.000	4	.000	.402	.805
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	24			
HATI	Between Groups	.000	4	.000	.878	.495
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	24			
LIMPA	Between Groups	.000	4	.000	2.388	.085
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	24			
PANKREAS	Between Groups	.000	4	.000	.353	.839
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	24			
USUS	Between Groups	.000	4	.000	.610	.660
	Within Groups	.001	20	.000		
	Total	.001	24			
BURSA	Between Groups	.000	4	.000	1.745	.180
	Within Groups	.000	20	.000		
	Total	.000	24			

TIMUS

		N	Subset for alpha = 0.05
PERLAKUAN			1
Duncan ^a	P0	5	.004200
	P4	5	.005040
	P3	5	.005060
	P1	5	.005100
	P2	5	.005400
	Sig.		.295

HATI

		N	Subset for alpha = 0.05	
PERLAKUAN			1	
Duncan ^a	P2	5		.023720
	P1	5		.024300
	P3	5		.024540
	P0	5		.025460
	P4	5		.025940
	Sig.			.155

LIMPA

		N	Subset for alpha = 0.05	
PERLAKUAN			1	2
Duncan ^a	P3	5	.001200	
	P2	5	.001280	
	P4	5	.001560	.001560
	P0	5	.001580	.001580
	P1	5		.001900
	Sig.		.185	.220

PANKREAS

		Subset for alpha = 0.05	
PERLAKUAN		N	1
Duncan ^a	P4	5	.002760
	P3	5	.002860
	P1	5	.002920
	P0	5	.002960
	P2	5	.003120
	Sig.		.319

USUS

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
P4	5	.045040	
P2	5	.045840	
P3	5	.046560	
P1	5	.048800	
Sig.		.188	

BURSA

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a P2	5	.0004700	
P4	5	.0005800	.0005800
P1	5	.0006680	.0006680
P0	5	.0008520	.0008520
P3	5		.0012700
Sig.		.310	.072

Lampiran 11. 2 Analisis Variansi dan Uji Duncan Profil Leukosit

ANAVA LEUKOSIT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	143.290	4	35.823	4.029	.015
Within Groups	177.820	20	8.891		
Total	321.110	24			

Uji DuncanLeukosit Total

		N	Subset for alpha = 0.05	
PERLAKUAN			1	2
Duncan ^a	P1	5	12.5800	
	P4	5	15.0600	
	P3	5	15.4800	
	P2	5	15.7400	
	P0	5		20.0000
	Sig.		.139	1.000

ANAVA LIMFOSIT

Limfosit	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.904	4	.476	1.656	.200
Within Groups	5.751	20	.288		
Total	7.656	24			

Uji Duncan Limfosit

PERLAKUAN		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	
Duncan ^a	P1	5		1.8600
	P2	5		1.9600
	P0	5		1.9660
	P3	5		2.2400
	P4	5		2.6200
	Sig.			.056

ANAVA MONOSIT

Monosit	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.068	4	1.267	22.788	.000
Within Groups	1.112	20	.056		
Total	6.180	24			

Uji Duncan Monosit

PERLAKUAN		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan ^a	P0	5	1.4000			
	P1	5	1.6000	1.6000		
	P2	5		1.7400		
	P3	5			2.2200	
	P4	5				2.6400
	Sig.		.195	.359	1.000	1.000

ANAVA NEUTROFIL

Neutrofil	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	245.894	4	61.474	4.952	.006
Within Groups	248.264	20	12.413		
Total	494.158	24			

Uji Duncan Neutrofil

		N	Subset for alpha = 0.05	
PERLAKUAN			1	2
Duncan ^a	P0	5	43.0800	
	P1	5	45.7200	
	P2	5	47.4800	47.4800
	P4	5		50.7200
	P3	5		51.5400
	Sig.		.075	.099

Lampiran 11.3. Analisis Variansi dan Uji Duncan Profil Protein

ANAVA TOTAL PROTEIN SERUM

Total Protein Serum	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.402	4	.601	.985	.438
Within Groups	12.188	20	.609		
Total	14.590	24			

Uji Duncan Total Protein

		N	Subset for alpha = 0.05	
Perlakuan			1	
Duncan ^a	P1	5		5.7420
	P2	5		5.8120
	P0	5		5.8660
	P3	5		6.1020
	P4	5		6.5940
	Sig.			.136

ANAVA ALBUMIN

Albumin	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.873	4	.218	1.084	.391
Within Groups	4.028	20	.201		
Total	4.902	24			

Uji Duncan Albumin

		N	Subset for alpha = 0.05
Perlakuan			1
Duncan ^a	P4	5	1.5420
	P0	5	1.7740
	P3	5	1.8400
	P2	5	1.9820
	P1	5	2.0880
	Sig.		.098

ANAVA GLOBULIN

Globulin	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.870	4	1.468	2.254	.099
Within Groups	13.021	20	.651		
Total	18.891	24			

Uji Duncan Globulin

		N	Subset for alpha = 0.05	
Perlakuan			1	2
Duncan ^a	P1	5	3.6540	
	P2	5	3.8300	
	P0	5	4.0920	4.0920
	P3	5	4.2620	4.2620
	P4	5		5.0520
	Sig.		.288	.089

Lampiran 11. 4 Analisis Variansi dan Uji Duncan Profil Lemak

ANAVA TRIGLISERID

Trigliserid	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	979.458	4	244.865	1.344	.288
Within Groups	3643.246	20	182.162		
Total	4622.704	24			

Uji Duncan Trigliserid

Perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	P4	5	37.57020
	P1	5	40.74760
	P3	5	41.12140
	P2	5	45.79440
	P0	5	55.51420
	Sig.		.072

ANAVA KOLESTEROL

Kolesterol	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1435.677	4	358.919	.397	.808
Within Groups	18083.176	20	904.159		
Total	19518.853	24			

Uji Duncan Kolesterol

Perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	P2	5	138.09140
	P3	5	139.25300
	P1	5	149.04560
	P4	5	149.70960
	P0	5	158.67220
	Sig.		.343

ANAVA LDL

LDL	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2157.346	4	539.337	.649	.634
Within Groups	16615.680	20	830.784		
Total	18773.026	24			

Uji Duncan LDL

		N	Subset for alpha = 0.05
Perlakuan			1
Duncan ^a	P3	5	125.14500
	P2	5	126.97100
	P1	5	136.26540
	P4	5	141.90860
	P0	5	150.04120
	Sig.		.234

ANAVA HDL

HDL	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.085	4	15.521	.329	.855
Within Groups	944.345	20	47.217		
Total	1006.430	24			

Uji Duncan HDL

			Subset for alpha = 0.05
Perlakuan		N	1
Duncan ^a	P4	5	30.53960
	P0	5	32.69700
	P3	5	32.69700
	P2	5	34.19080
	P1	5	35.18660
	Sig.		.348

Lampiran 11. 5 Analisis Variansi dan Uji Duncan Profil SGPT dan SGOT

ANAVA SGPT

SGPT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.109	4	.527	7.729	.001
Within Groups	1.364	20	.068		
Total	3.474	24			

Uji Duncan SGPT

		N	Subset for alpha = 0.05	
Perlakuan			1	2
Duncan ^a	P0	5	3.2480	
	P1	5	3.3660	
	P4	5		3.8540
	P2	5		3.8640
	P3	5		3.9540
	Sig.		.483	.574

ANAVA SGOT

SGOT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.909	4	.727	3.851	.018
Within Groups	3.777	20	.189		
Total	6.687	24			

Uji Duncan SGOT

Perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	P0	5	5.1900		
	P2	5	5.2880	5.2880	
	P1	5	5.7360	5.7360	5.7360
	P3	5		5.8280	5.8280
	P4	5			6.1000
	Sig.		.073	.076	.224

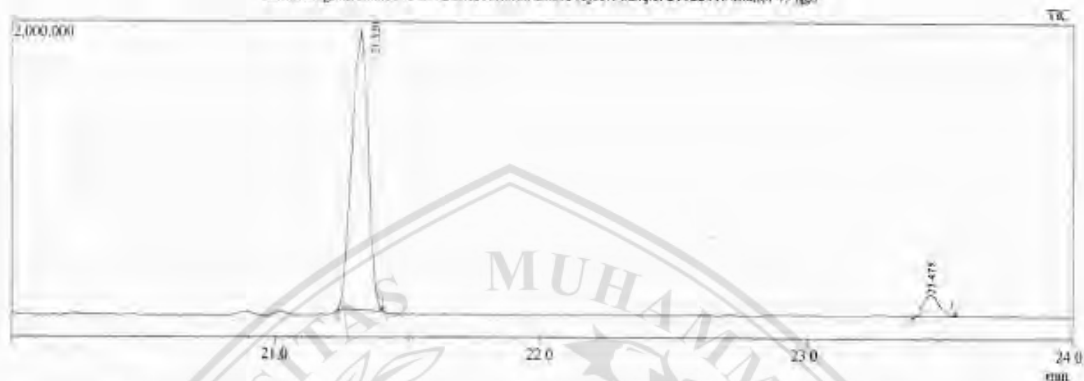


Lampiran 12. Hasil Uji Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI
Jl Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp/Fax: +62341 559054
http://lelitub.ac.id Email: laboratoriumsentral@ub.ac.id ; laboratoriumsentral@unsd.com

Chromatogram Etanol 45 C:\GCMSolution\Data\Project1\sampel 21022018\Etanol 45 (ng)



Quantitative Result Table

ID#	Name	R. Time	m/z	Area	Height	Conc. Conc Unit	R. Index
1	Zenarbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one	21.323	41.00	440898	115976	91.011 %	0
2	1-Tridecen-1-yne, (E)- (CAS)	21.474	43.00	43526	11787	8.989 %	0

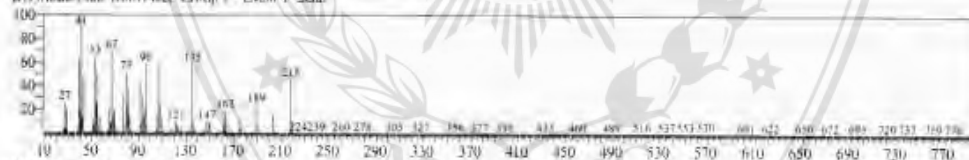
Library

<< Target >>

Line# 1 R. Time: 21.320 (Scan# 4065) MassPeak# 465

RawMode: Averaged 21.315-21.325 (4064-4066) BasePeak: 41.00 (12079)

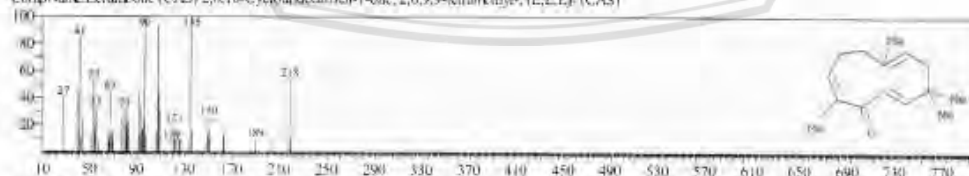
BG Mode: Calc from Peak Group 1 - Event 1, Scan



Hit# 1 Entry: 118285 Library: WILEY7.LIB

SI: 87 Formula: C₁₅H₂₂O CAS: 471-05-6 MolWeight: 218 RetIndex: 0

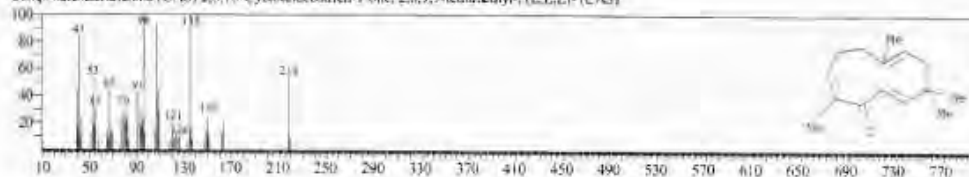
CompName: Zenarbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one, 2,6,9,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS)



Hit# 2 Entry: 118286 Library: WILEY7.LIB

SI: 84 Formula: C₁₅H₂₂O CAS: 471-05-6 MolWeight: 218 RetIndex: 0

CompName: Zenarbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one, 2,6,9,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS)





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI
Jl Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp/Fax +62341 559034

<http://lablib.ac.id/Email> : laboratoriumsentral@lablib.ac.id ; laboratoriumsentral@gmail.com

Chromatogram Etanol 70 °C/MSvoluion/Data/Project1/sample121022018/Etanol 70 ug/L



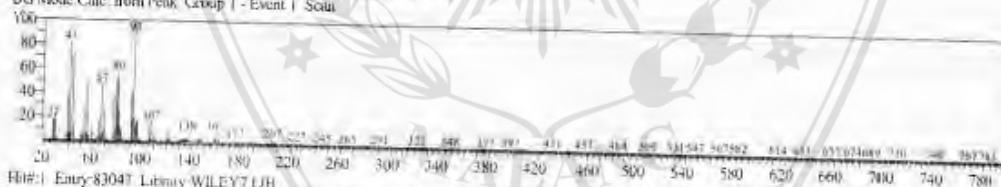
Quantitative Result Table

ID#	Name	R Time	Area	Height	Area%	Height%	Conc. Conc Unit	R Index
1	1,5,9,11-Tetradecatetraene, 12-methyl-, (E,E)- (C	18.387	93.00	15095	9559	4.709 %	0	0
2	humuladienone	18.640	67.00	65235	17567	8.756 %	0	0
3	Zenarhione (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1,4	21.340	41.00	562091	165292	75.422 %	0	0
4	Palchulone	23.482	43.00	38547	10134	3.772 %	0	0
5	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (C	25.606	74.00	27829	7323	3.734 %	0	0
6	12,15-Octadecadienoic acid, methyl ester (CAS	28.914	67.00	16444	4390	2.206 %	0	0

Library

<< Target >>

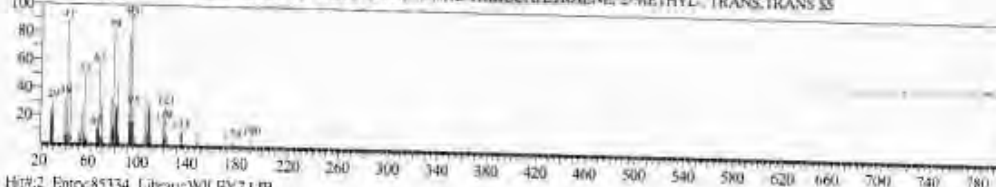
Line#1 R Time: 18.380 (Scan# 3477) MassPeak: 455
RawMode: Averaged 18.375-18.385 (3476-3478) BasePeak: 93.10 (9120)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1 - Solu



Hit#1: Entry-83047 Library-WILEY7 LIB

SI:87 Formula:C14 H22 CAS:62338-27-6 MolWeight:190 RetIndex:0

CompName: 1,5,9,11-Tetradecatetraene, 12-methyl-, (E,E)- (CAS) 2,4,8,12-TRIDECATETRAENE, 2-METHYL-, TRANS,TRANS IS



Hit#2: Entry-85334 Library-WILEY7 LIB

SI:86 Formula:C14 H24 CAS:74752-91-3 MolWeight:192 RetIndex:0

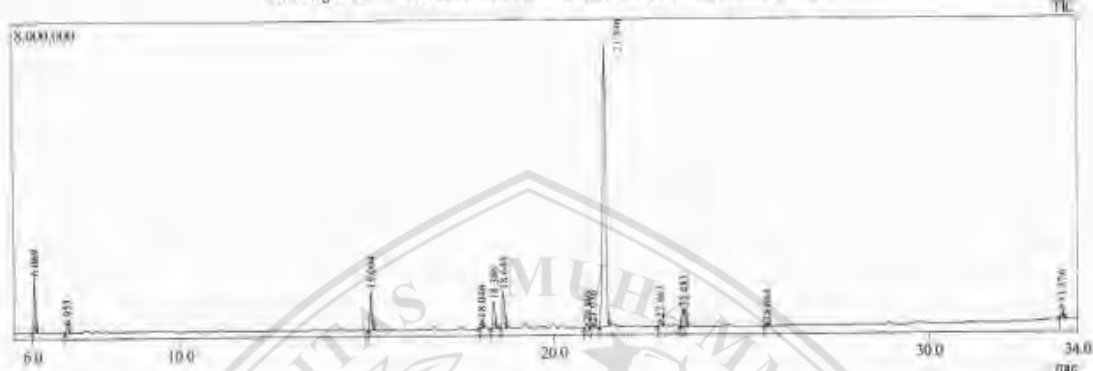
CompName: 1-Tetradecene-2-yne (CAS)





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
LABORATORIUM SENTRAL ILMU HAYATI
Jl Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp/Fax: +62341 559054
http://isih.ub.ac.id Email: laboratoriumsentral@ub.ac.id; laboratoriumsentral@gmail.com

Chromatogram Etanol 95 C:\QCMSolution\Data\Project\sampel 21022018\Etanol 95.qgd



Quantitative Result Table

ID#	Name	R.Time	m/z	Area	Height	Conc. Conc Unit	R Index
1	Linalool	6.065	71.00	439004	165973	10.762 %	0
2	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one-1,7,7-trimethyl-, (6.953	41.00	40620	13860	0.996 %	0
3	alpha-Humulene	15.095	93.00	636655	222954	15.607 %	0
4	Patchulene	18.044	41.00	63166	19341	1.548 %	0
5	7-Pentadecen-5-one, (Z) (CAS)	18.383	93.00	287834	77574	7.036 %	0
6	humulabeneol	18.642	67.00	425098	108896	10.421 %	0
7	Cardione	20.897	69.00	50157	12405	1.240 %	0
8	cis-7-7-Desatien-3-yl acetate	21.033	43.00	64904	18414	1.591 %	0
9	Zeranolone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-	21.397	41.00	1759899	370354	43.143 %	0
10	1,5,9-DECALYNE, 2,3,5,8-TETRAMETHYL	22.365	41.00	55505	14334	1.736 %	0
11	Lactone	23.486	43.00	141368	37391	3.466 %	0
12	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester (C	25.669	74.00	47385	12671	1.162 %	0
13	Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-3-(2-pro	33.574	41.00	67250	19009	1.649 %	0

Library

<< Target >>

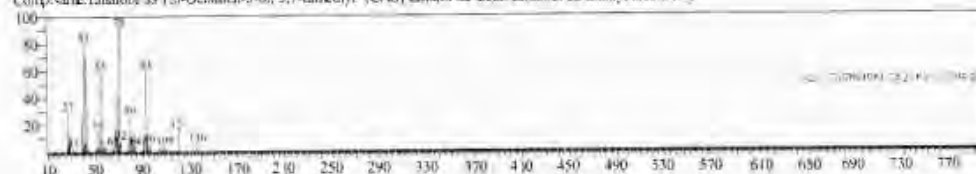
Line# 1 R.Time: 6.070 (Scan# 1015) MassPeak: 434
RawMode: Averaged 6.065-6.075 (014-016) BasePeak: 71.05 (10026)
BG Mode: Calc from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit# 1 Entry: 43686 Library: WILEY7 LIB

SI: 95 Formula: C10H18O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: Linalool SS 1,5-Desatien-3-ol, 3,7-dimethyl-, (CAS) Linalol SS beta-Linalool SS Linalyl alcohol SS



Plunger Speed (Suction) High
 Viscosity Comp. Time 0.2 sec
 Plunger Speed (Injection) High
 Syringe Injection Speed High
 Injection Mode Normal
 Pumping Times 5
 Inj. Port Dwell Time 0.3 sec
 Terminal Air Gap No
 Plunger Washing Speed High
 Washing Volume 8ul
 Syringe Suction Position 0.0 mm
 Syringe Injection Position 0.0 mm
 Solvent Selection only A

(GC-Q010)
 Column Oven Temp. 100.0 °C
 Injection Temp. 300.00 °C
 Injection Mode Split
 Flow Control Mode Pressure
 Pressure 24.9 kPa
 Total Flow 55.9 mL/min
 Column Flow 0.52 mL/min
 Linear Velocity 26.9 cm/sec
 Purge Flow 3.0 mL/min
 Split Ratio 100.0
 High Pressure Injection OFF
 Carrier Gas Select OFF
 Splitter Hold OFF

Oven Temp. Program
 Rate Temperature (°C) Hold Time (min)
 - 100.0 3.00
 - 100 300.0 5.00

Ready Check Heat List >
 Column Oven Yes
 SPLI Yes
 MS Yes
 Ready Check Detector (FID/BID) >
 Ready Check Baseline Drift >
 Ready Check Injection Flow >
 SPLI Carrier Yes
 SPLI Purge Yes
 Ready Check APC Flow >
 Ready Check Detector APC Flow >
 External Wait No
 Equilibrium Time 3.0 min

(GC Program)

(GCMS-Q#2010 12tra)
 Ion Source Temp. 200.00 °C
 Interface Temp. 330.00 °C
 Solvent Cut Time 0.50 min
 Detector Gain Mode Relative to the Tuning Result
 Detector Gain 0.95 kV ±0.00 kV
 Threshold 0

(MS Table)

-Group: 1- Event: 1-
 Start Time 1.00 min
 End Time 348.00 min
 ACQ Mode Scan
 Event Time 30.30 sec
 Scan Speed 13333
 Start m/z 20.00
 End m/z 800.00

Sample Inlet Unit GC

(MS Program)
 Use MS Program OFF



